



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Nigella sativa* L. TOHUMLARININ ÇOĞUL
DİRENÇLİ KLİNİK İZOLATLAR ÜZERİNDE
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

İnci DURUKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU

TRABZON-2013

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Faruk AYDIN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi İnci DURUKAN'ın hazırladığı "*Nigella sativa* L. tohumlarının çoğul dirençli klinik izolatlar üzerinde antimikrobiyal etkisinin araştırılması" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU _____

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İlknur TOSUN _____

Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU _____

Doç. Dr. Mine KADIOĞLU DUMAN _____

Tarih: .../.../2012

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../.... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

.../.../....

İnci DURUKAN

İthaf

Yüksek lisans tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman destekleri ile yanımda olan sevgili annem ve babama ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU'na ve bölüm başkanımız Prof. Dr. Faruk AYDIN' a, bölüm hocalarım Prof. Dr. Neşe KAKLIKKAYA, Prof. Dr. İlknur TOSUN, Doç Dr. Ali Osman KILIÇ, Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK'a benimle paylaştıkları bilgi ve deneyimleri, destekleri için teşekkür ederim.

Tez çalışmamda ekstraktların hazırlanması konusunda bilgi, yardım ve emeklerini esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Atalay Sökmen ve doktora öğrencisi Ersan Bektaş'a, sonuçların istatistiksel analizleri konusunda bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Fen Fakültesi İstatistik Bölümü Araştırma Görevlisi sevgili yengem Kübra DURUKAN'a teşekkür ederim.

Destek ve yardımlarından dolayı anabilim dalımızda yüksek lisans, doktora, uzmanlık eğitimi alan arkadaşlarıma ve Tıbbi Mikrobiyoloji Rutin Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Trabzon'u sevmemde katkısı büyük olan ve her zaman yanımda olup bana destek veren, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayıp yardımına koşan arkadaşlarım Dilek KOCABAŞ ve Sema MISIR'a ve her zaman bilgisine ve tecrübesine ihtiyaç duyduğum kıdemlim Arş. Gör. Nejla CEBECİ GÜLER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden her türlü desteklerini ve emeklerini esirgemeyen sevgili abim İbrahim DURUKAN, sevgili yengem Demet DURUKAN'a ve hayatım boyunca yanımda olan sevgili abim İsmail DURUKAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın en değerli parçaları ve maddi, manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili ailem ve değerli dostlarıma her zaman yanımda oldukları için teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

İnci DURUKAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç kapak sayfası	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	x
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Tarihçe	7
4.2. Tıbbi Bitkiler ve Önemi	8
4.3. Bitkilerin Antimikrobiyal Önemi	9
4.4. <i>Nigella sativa</i> L. Hakkında Genel Bilgiler	11
4.5. Kullanılan Mikroorganizma İzolatları Hakkında Genel Bilgiler	12
4.5.1. Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	12
4.5.2. Vankomisine Dirençli <i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	13
4.5.3. <i>Acinetobacter baumannii</i>	14
4.5.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
4.5.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
4.5.6. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16
4.5.7. <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	17
4.5.8. <i>Serratia marcescens</i>	17
4.5.9. <i>Candida</i> Türleri	18
4.6. Çoğul Dirençli Mikroorganizmalar	19
5. GEREÇ VE YÖNTEM	20
5.1. Gereç	20

5.1.1. Çalışma Grubu	20
5.1.2. Araç ve Gereçler	22
5.1.3. Kimyasallar	22
5.1.4. Besiyerleri	22
5.2.Yöntem	24
5.2.1. İzolatların İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri	24
5.2.2. Ekstraktların Hazırlanması	25
5.2.2.1. Ekstraksiyon	25
5.2.2.2. Evaporasyon	25
5.2.2.3. Partitasyon	26
5.2.2.4. Kaba Maddelerin Elde Edilmesi	26
5.2.3. Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması	26
5.2.3.1. Antibakteriyel Aktivite Deneyleri	26
6. BULGULAR	29
6.1. Araştırmaya Dahil Edilen İzolatların Genel Özellikleri	29
6.2. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları	30
6.3. Ekstraktların Verimleri	34
6.4. Ekstraktların Disk Difüzyon Yöntemi ile Aktiviteleri	34
6.5. Ekstraktların Sıvı Mikrodilüsyon (Broth dilüsyon) Yöntemi ile Aktiviteleri	40
6.6. İstatistiksel Analizler	43
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	47
7.1. Sonuçlar	54
8. KAYNAKLAR	56
9. ETİK KURUL ONAYI	64
10. ÖZGEÇMİŞ	65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. İzolat numarası, izolat ismi ve materyalin gönderildiği birim	20
Tablo 2. İzolatların izole edildiği klinik örnek çeşiti	29
Tablo 3. MRSA izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	30
Tablo 4. <i>S. paucimobilis</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	30
Tablo 5. <i>S. maltophilia</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	31
Tablo 6. <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	31
Tablo 7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	32
Tablo 8. VRE izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	32
Tablo 9. ESBL pozitif <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	33
Tablo 10. <i>Serratia marcescens</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	33
Tablo 11. Candida türlerinin antifungal duyarlılık ve MİK sonuçları	34
Tablo 12. Ekstraktların verim yüzdeleri	34
Tablo 13. Disk difüzyon testi sonuçları (inhibisyon zon çapları mm)	37
Tablo 14. İzolatların MİK değerleri (mg/ml)	42
Tablo 15. Wilcoxon Signed Rank testi sonuçları	43
Tablo 16. Kruskal-Wallis testi sonuçları	44
Tablo 17: Ki-Kare Uygunluk testi sonuçları	45
Tablo 18. Kruskal Wallis testi	45
Tablo 19. İkili karşılaştırmalar (Mann-Whitney U testi)	46

RESİMLER DİZİNİ

Resim		Sayfa
Resim 1.	<i>S. paucimobilis</i> izolatlarından birinin disk difüzyon fotoğrafı	40
Resim 2.	Sıvı mikrodilüsyon testi fotoğrafı	41

KISALTMALAR SİMGELER VE FORMÜLLER DİZİNİ**Kısaltmalar**

ATCC	American Type Culture Collection
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
DMSO	Dimetil sülfoksit
MRSA	Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
SDA	Sabouraud dextrose agar
EMB	Eozin metilen blue agar
KDMHB	Katyon dengeli Muller Hilton Broth
VRE	Vankomisine Dirençli <i>Enterococcus faecium</i>

1. ÖZET

***Nigella sativa* L. tohumlarının çoğul dirençli klinik izolatlar üzerinde antimikrobiyal etkisinin araştırılması**

Mevcut antibiyotiklere karşı gelişen direnç ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle son yıllarda araştırmacılar dirençli izolatlar üzerinde etkili alternatif antimikrobiyal ajanlar aramaya başlamışlardır. Antibakteriyal, antifungal, antiviral ve antihelmintik özellikleri nedeni ile çeşitli bitkiler dünyada ve ülkemizde kullanılmaktadır. *Nigella sativa* L. tohumları (Çörek otu) da bu özellikleri nedeniyle pek çok araştırmaya konu olmuştur.

Bu çalışmada, *Nigella sativa* L. tohumlarından soxhlet yöntemi ile metanol, aseton, etil asetat, kloroform ve hekzan ekstraktları hazırlandı. Ekstraktların metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (VRE), çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa*, genişlemiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) pozitif *Klebsiella pneumoniae*, trimetoprim/sulfametoksazole (SXT) dirençli *Stenotrophomonas maltophilia*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* ve *Candida glabrata* klinik izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi.

En az bir ekstraktın disk difüzyon yöntemi ile metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatlarının onuna (%100), *S. paucimobilis*' in yedisine (%100), *S. maltophilia*' nin onuna (%100), *C. albicans*' in dördüne (%100), *C. parapsilosis*' in dördüne (%100), *C. glabrata*' nin ikisine (%100), *A. baumannii*' nin üçüne (%25), *P. aeruginosa*' nin üçüne (%30) ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının birine (%10) karşı aktivite gösterdiği belirlendi. Bu izolatların minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. MİK en düşük 0.1 mg/mL değer ile *S. paucimobilis*' e ve en yüksek ≥ 100 mg/mL ile *S. maltophilia* ve *A. baumannii*' de tespit edildi.

Vankomisine dirençli *E. faecium* (VRE), *S. marcescens* izolatlarının tamamı, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının büyük bir kısmına karşı ekstraktların hiçbirinin aktivite göstermediği belirlendi.

Anahtar Sözcük: Antimikrobiyal ajanlar, oğul dirençli bakteri, Ham ekstrakt, *Nigella sativa* L., Disk difüzyon, Sıvı mikrodilüsyon

2. SUMMARY

Investigation of the antimicrobial effects of *Nigella sativa* L. seeds on the multiple resistant clinical isolates

The resistance developed against existing antibiotics has become a serious health problem. Therefore, researchers have recently become to search for effective alternative antimicrobial agents against resistance strains. Throughout the history, various plants due to their antibacterial, antifungal, antiviral, and anthelmintic properties have been used as antimicrobials around the world and in our country. Having these features *Nigella sativa* L. seeds (black cumin), has been the subject for many studies.

In this study, methanol, acetone, ethyl acetate, chloroform and hexane extracts of *Nigella sativa* L. seeds were prepared by soxhlet method. The antimicrobial activity of extracts against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin resistant *Enterococcus faecium* (VRE), multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*, ESBL positive *Klebsiella pneumoniae*, trimetoprim/sulfametoksazol (SXT), resistant *Stenotrophomonas maltophilia*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, and *Candida glabrata* were determined using disk diffusion and broth microdilution methods.

At least one extract showed activity against ten (%100) methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), seven (%100) *S. paucimobilis*, ten (%100) *S. maltophilia*, four (%100) *C. albicans*, four (%100) *C. parapsilosis*, and two (%100) *C. glabrata*, three (%25) *A. baumannii*, three (%30) *P. aeruginosa*, one (%10) extended-spectrum beta lactamase (ESBL) positive *K. pneumoniae* were determined by disk diffusion method. Minimal inhibitory concentrations of these isolates were determined using broth dilution method. The lowest minimal inhibitory concentration (MIC) value was 0.1 mg/ mL for *S. paucimobilis*, and the highest value of ≥ 100 mg/ mL for *S. maltophilia* and *A. baumannii*, respectively.

None of the extracts showed inhibitory activity against vancomycin resistant (VRE) *E. faecium* and *S. marcescens* isolates tested, and against a large number of *A.*

baumannii, *P. aeruginosa*, and extended-spectrum beta lactamase (ESBL) positive *K. pneumonia* isolates.

Key Words: Antimicrobial agents, Multidrug resistant bacteria, Crude extract, *Nigella sativa* L., Disk diffusion method, Broth microdilution

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda kullanılan antibiyotiklere karşı gösterilen direnç 21. yüzyılda büyük bir küresel sağlık sorunu haline gelmiştir. Bakteriler tarih boyunca geliştirilen farklı sınıflardan antibiyotiklerin tümüne direnç geliştirmişlerdir. Son zamanlarda yeni direnç mekanizmalarının ortaya çıkması ile farklı sınıftan antibiyotiklere dirençli "süpermikroplar" olarak adlandırılan çoğul dirençli bakteriler büyük bir tehlike oluşturmaktadır (1). Mevcut antibiyotiklerin hastalarda ve gıda endüstrisinde gelişigüzel ve uygunsuz kullanımı, uzamış hastanede yatış süresi ve enfeksiyona karşı koruyucu önlemlerin yetersiz uygulanması antibiyotik direncinin başlıca nedenleridir (1, 2). Mevcut antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli bakteri izolatları endişe verici bir şekilde artış göstermektedir. Bu durum antibiyotiklere dirençli bakterilere karşı yeni etkili ajanlar aramayı gerektirmektedir (3, 4). Fakat son yıllarda kullanıma giren antibiyotik sayısı çok düşüktür ve daha da düşmesi beklenmektedir. Çünkü ilaç sanayi, akademik kurumlar ve hükümetler daha etkili ve güvenli yeni antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesi için yatırım yapmamaktadır. Büyük ilaç firmalarının çoğu ekonomik nedenlerden dolayı anti-efektif araştırma programlarını sonlandırmışlardır. Dolayısıyla bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yakın bir gelecekte çaresiz kalacağımız beklenen bir durumdur (1).

Bu sorunun çözümlerinden birisi de şifalı bitkilerden yararlanmaktır (2). Binlerce yıldır doğa özellikle geleneksel tıpta kullanılan bitkilerin kaynağı olmuştur. Bitkilerin farklı aktif bileşenleri onların fizyolojik etki göstermesine sebep olur. Bu bileşenlerin bazıları antimikrobiyal etki gösterir (2, 3). Bilim adamları enfeksiyon kontrolü için antibiyotik direncini araştırmanın ötesinde, bitki özleri ve fraksiyonlarının antimikrobiyal özelliklerini de araştırmaktadır (4).

Ümit veren tıbbi bitkiler arasında, Ranunculaceae familyasına ait bir tür olan *Nigella sativa* L. bitkisi çok şaşırtıcı bir tarihsel ve dinsel geçmişe sahiptir (5). *Nigella sativa* L. (Çörek otu) bulaşıcı hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisi için yüzyıllardır kullanılan otsu bir bitkidir. Son yıllarda tohumları üzerinde pek çok çalışma yapılmış ve tıbbi özellikleri rapor edilmiştir. Bunların ham ekstraktlarının ve esansiyel yağlarının çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (6).

Nigella sativa L.'nin ham ekstraktlarının çoğul dirençli *Staphylococcus aureus*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae* ve *Candida albicans* üzerinde umut verici bir etkisi olduğu bildirilmiştir (7), yağının ise *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde doza bağlı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (8).

Patojenik bakteriler *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *C. albicans* türü mantarlar üzerinde *N. sativa* tohumlarının dietileterdeki ekstraktları ile çalışmalar yapılmıştır. Tohumların eter ekstraktları test edilen gram-pozitif ve gram-negatif mikroorganizmalar üzerinde doza bağlı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (9).

N. sativa L.'nin metanol ve su ekstraktının *Streptococcus mutans* gelişimini önlediği, bununla birlikte *S. mutans*'ın düz yüzeyli hücrelere adhezyonunu engellediği tespit edilmiştir. Bitki ekstraktının diş çürümelere ve plaklarını önleyebildiği de ortaya konulmuştur (10).

N. sativa L. tohumlarıyla hazırlanan alkolik ekstraktının *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Mycobacterium phlei* ve metisilin dirençli *S. aureus*'a karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *N. sativa* L.'nin eter ekstraktının deri enfeksiyonuna neden olan *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Ephidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiştir (11).

Nigella sativa L.'nin metanol ekstraktının antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemiyle *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*'a karşı olduğu tespit edilmiştir (12). Fakat dirençli suşlar üzerinde çalışmalar oldukça azdır ve vankomisin dirençli enterokoklarda olduğu gibi bazı önemli bakteriler üzerine etkinliği araştırılmamıştır. Önemli bir noktada da ekstraktların farklı çözücüler ile hazırlanması sonucu gösterdikleri aktivitenin değişmesidir. Etanol, etil asetat ekstraktları ve uçucu yağ geniş bir antimikrobiyal spektruma sahiptir (13).

Bu çalışmamızda *Nigella sativa* L. tohumlarının, halk arasında bilinen adı ile çörek otunun farklı (hekzan, aseton, metanol, etil asetat ve kloroform) çözücüler ile hazırlanan ekstraktlarının klinik örneklerden elde edilen antibiyotiklere çoğul dirençli izolatlar üzerinde antimikrobiyal aktivitesinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tarihçe

Dünyada ve ülkemizde tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Hastalıktan kurtulmak için kaynak olarak tıbbi bitkilerin kullanımı Çin, Hindistan ve Yakın Doğu'nun erken medeniyetleri kadar eskidir hatta bu konu ile ilgili yazılı belgeler milattan öncesine aittir (14).

Tarih öncesi dönemde Anadolu'da insanlar, bitkileri tedavi amacıyla kullanmışlardır. Buna en iyi kanıtı, Hakkari'nin hemen güneyinde yer alan Şanidar mağarasında ortaya çıkan 5000 yıllık mezar içinde bulunan ve halen bölgede tıbbi amaçlar için kullanılan *Centaurea*, *Ephedra*, *Althae*, *Alchemilia* türleridir (15). Drog elde edilen bitkiler konusundaki yazılı belgelerin en eskilerinden biri ise Ebers Papiruslarıdır. M.Ö. 1550'de yazılmış bu papirusta bitkisel ve hayvansal 700 kadar drogtan söz edilmektedir (15, 16). Bugünkü Irak sınırları içerisinde 60.000 yıl önce yaşamış olan Neanderthallerin, bugün dünyanın birçok yerinde tedavi edici olarak kullanılan gülhatmi bitkisini kullandıklarına dair kanıtlar bulunmuştur (17). M.Ö. 3000'li yıllarda Ayurveda (Hayat Bilgisi) isimli kaynakta Hintlilerin 8000'den fazla bitkisel ilacı kullandıkları anlatılmaktadır (18). Hititler bitkisel drogları yabancı bitkilerden elde ettikleri gibi, bazılarını elde etmek için, ekim yaptıkları ve bunlardan bazılarını (Safran, Haşhaş, Soğan, Sarımsak vb.) dış ülkelere sattıkları bilinmektedir. Mezopotamya uygarlıklarında (Sümer, Akad ve Asurlar) M.Ö. 2000'li yıllardaki tablet kayıtları incelendiğinde adamotu, banotu, haşhaş, kekik, nane, nar kabuğu ve safran gibi 250 civarında tıbbi bitkiden yararlandıkları anlaşılmıştır. Botanik ilminin temelini atan kişi sayılan Theophraste (M.Ö.370-287) eğrelti otunun etkilerini ilk bildiren hekimdir (15).

Hipokrat'ın (M.Ö.460-370) yazdığı kitaplarda 300 ile 400 adet tür bitkiden bahsedilmektedir. Milattan sonraki ilk yıllarda Dioscorides, modern farmakopelerin bir ön hazırlığı sayılabilecek içerisinde 600' den fazla tıbbi bitkinin yer aldığı "De Materia Medica" adlı kitabı yazmıştır (19).

Araplar şifalı bitkilerle ciddi çalışmalar yapmış diğer bir topluluktur. Arap hekimlerden Dineveri (820-895) bitkilerin sınıflandırılmaları ve bunlardan faydalanma yollarını anlatan kitaplar yazmıştır. Tıbbi ilimler bilgini olan Ebu Reyhan Biruni (973-1051) 200 kadar bitkisel drogu Kitab al- Saydada fi al-Tıb adlı kitapta tanımlamıştır (15). İspanya'da yaşayıp Şam'da ölmüş olan Ziyaeddin İbn Baytar Arap bir hekimdir. Anadolu'da gezmiş ve Baytarname isimli eserinde 1800 kadar bitkisel ve 130 hayvansal drog tanıtmıştır (16).

Anadolu'da tarih boyunca bitkilerin yaygın kullanımının nedeni şüphesiz ki bu bölgenin sahip olduğu fitocoğrafik özelliklerin bir sonucudur. Çeşitli iklim tiplerinin etkisinde bulunması ve Avrupa ile Asya arasında olan coğrafik konumu, Anadolu'daki flora çeşitliliğinin oluşumunda en önemli etkenlerdir (20). Bu etkenler Anadolu insanının tarihte bitkiler hakkında detaylı bilgilere ulaşmak istemelerine ve onlarla yakından ilgilenmelerine sebep olmuş, ayrıca bitkiler üzerinde çalışmalar yapmalarına ve hakkında geniş bilgi dağarcığına sahip olmalarında etkili olmuştur.

Örneğin; Türk bilgini İbni Sina (Avicenna) 785 bitkisel, hayvansal ve madensel drogların hazırlanışı ve kullanım şekillerini yazmıştır. Fatih Sultan Mehmet'in hocası olan Ak Şemseddin'in hekimlik yapmış olduğu ve tıbbi bitkiler ile detaylı bir şekilde ilgilendiği tarih kayıtlarında bulunmaktadır (15).

4.2. Tıbbi Bitkiler ve Önemi

Tıbbi özelliklere sahip, sağlıkla ilgili etkileri olan, batı standartlarına göre ilaç olarak kullanılabileceği kabul edilen veya ilaç olarak kullanılan maddeler içeren yüksek yapılı bitkilere tıbbi bitki denir (21). Drog, ilaçların hazırlanmasında kullanılan, hayvansal ya da bitkisel kökenli, yani sentezi bitki veya hayvan hücresi tarafından yapılan ilaç hammaddelerine verilen isimdir. Bitkisel drogların sayısı hayvansal droglardan çok daha fazladır; bunun sebebi bitkilerin insan sağlığındaki yerinin ve öneminin çok daha büyük olmasıdır (16).

Bitkilerin prokaryot ve ökaryot organizmalar üzerindeki biyolojik etkileri çok az çalışma tarafından ele alınmış olmasına rağmen bitkiler bizim sentez edemediğimiz çeşitli biyoaktif özelliklere sahip bileşikleri neredeyse sonsuz bir yetenek ile sentezlemektedirler. Tıbbi bitkiler sentezledikleri tanen, terpenoidler, alkaloidler,

flavonoidler, fenoller ve kinonlar gibi sekonder metabolitleri açısından zengindir. Bu maddeler geleneksel tıpta dünya çapında çeşitli hastalıklar ve enfeksiyon tedavisinde kullanılmaktadırlar (22).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün verilerine göre; 91 ülkede tıbbi bitki bulunmaktadır ve bu bitkilerin sayısı yaklaşık 20.000 olarak bilinmektedir (23). Kullanıldığı bilinen bitkilerin 500 kadarının üretiminin yapıldığı kaydedilmektedir. Farklı amaçlarla kullanılan bitkiler farmakopelerde (Kodeks) kayıtlıdır. Türk farmakopesinde 140 civarında bitki kayıt altındadır. Fakat halk arasında çeşitli hastalıklar için kullanılan bitki sayısı daha fazladır (24). WHO' nun 2001 yılında verdiği bilgilere göre ise, dünya popülasyonunun % 80'inde, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, bitkisel ilaçlar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (25).

Dünyada olduğu gibi bizim ülkemizde de yüksek oranda bitkiler tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ülkemizin çoğu ülkeden farkı, bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça zengin bir floraya sahip olmasıdır. Bu zenginlik; Üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Avrupa ile Asya arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezinin Anadolu oluşu, ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşmanın sonucu olarak tür çeşitliliğinin yüksek olmasının en önemli sebebidir. Ülkelerin sahip olduğu bitki örtüsü zenginliklerini şu şekilde ifade edebiliriz; tüm Avrupa'da 12 bin bitki türü yer alırken bu rakam ülkemiz için 9 bin civarındadır (23). Anadolu'da yaklaşık 3000 adet endemik bitki türü bulunmaktadır (26). Ülkemizdeki bu zenginlik bitkilerin hayatımızda önemli bir yere sahip olmalarına neden olmuştur.

4.3. Bitkilerin Antimikrobiyal Önemi

Farklı ülkelerde bitkiler etkili ve güçlü ilaç kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin kök, gövde, yaprak, tohum gibi parçaları geniş bir yelpazede ilaç hammaddesi olarak kullanılıp çeşitli tıbbi özelliklere sahip olduğu bilinmektedir, ancak yüksek sayıda bitkinin potansiyeli hâlâ büyük ölçüde keşfedilmemiştir. Şifalı bitkilerin en önemli özelliklerinden biri antimikrobiyal ajanlar için zengin bir kaynak oluşturmalarıdır (14).

Dünyada 1926'dan beri laboratuvar koşullarında, bitkilerin mikroorganizmaları inhibe edici özellikleri, özellikle insan sağlığı için önemli olduklarından dolayı araştırılmaktadır. Günlük yaşamda geleneksel yöntemlerle tedavide kullanılan tıbbi bitki denemeleri şimdilerde gözlem ve deneye dayalı metodlar ile yapılmaktadır (27).

Antibiyotiklerin zararlarını azaltmak için ve ilaca dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonları ortadan kaldırmak için yeni kemoterapötik alternatifler aranmaya başlanmıştır. Dünyadaki birçok çalışma ile bitkiler ve bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (22, 28).

Ondokuzuncu yüzyıldan beri dünyada araştırmacılar tarafından bilimsel deneyler ile bazı baharatlar, otlar ve bileşenlerin antimikrobiyal özellikleri belgelenmiştir. son yıllarda Türkiye'de de, çeşitli bitki özlerinin birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir (29).

İnsan patojenlerinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı gelişen ilaç direnci nedeniyle bitkiler dahil olmak üzere doğal kaynaklardan yeni antimikrobiyal maddeler arama gereksinimi duyulmuştur. Bitkilerin, kendilerini çeşitli patojenlere karşı korumak için antimikrobik maddelerinde arasında bulunduğu farklı bileşikler sentezledikleri bilinmektedir (30). Potansiyel ilaç kaynağı olarak kabul edilen bileşikler tedavi değeri yüksek ve geleneksel hatta modern tıbbın kaynağı olmuştur (31).

Çağlar boyu, baharatlar da birçok bulaşıcı hastalıkları iyileştirmek için alternatif ilaç olarak kullanılmıştır. Araştırmacılar çeşitli çalışmalarda bu konu üzerine çalışmışlardır (14, 32).

4.4. *Nigella sativa* L. Hakkında Genel Bilgiler

Nigella sativa 'nın taksonomisi

Alem : *Plantae*

Alt alem : *Tracheobionta*

Şube : *Magnoliophyta*

Sınıf : *Magnoliopsida*

Alt sınıf : *Magnoliidae*

Takım : *Ranunculales*

Familya : *Ranunculaceae*

Cins : *Nigella*

Tür : *Nigella sativa* L. (33)

Nigella sativa L. Ranunculaceae ailesinin bir üyesidir. *Nigella sativa* L. güneybatı Asya'ya özgü bir yıllık çiçekli bitkidir. İngilizce de black cumin, Arapçada Habat-baraka ve Urduca Kalonji olarak adlandırılmaktadır (34).

Yöresel olarak Çörekotu, Cöcce, Cöccem, Cüccam, Cüccem, Cüccum, Cütcan (Konya), Çöre otu, Karaca, Karaca occanı (Ermenek-Konya), Karaca otu, Kara çörek, Otçam, Siyah kimyon ve bereket tanesi olarak adlandırılmaktadır (33).

Nigella sativa L. tohumları tüm dünyada hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için halk arasında bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Akdeniz, Ortadoğu, Türkiye, Hindistan gibi ülkelerde tohumları yani çörek otu baharat ve tıbbi amaçlı olarak yetiştirilmektedir (35).

Nigella sativa L. ülkemizde tohum elde etmek amacıyla Afyon, Burdur ve Isparta'da yetiştirilmekte, tohumları halk arasında ilk olarak gıda amaçlı kullanılmasının yanı sıra, idrar ve süt artırıcı, iştah açıcı, adet söktürücü olarak geleneksel kullanıma sahiptir (15).

Çörek otu ekstraktları ve yağı antimikrobiyal etkisinin yanı sıra çeşitli farmakolojik özelliklere de sahiptir. M.S. 1. yüzyılda yaşayan Yunanlı bir doktor olan Dioscorides çörek otunun nezle, diş ağrısı, baş ağrısı ve bağırsak solucanları tedavisi için kullanıldığını bildirmiştir (36).

N. sativa L. tohumu yağı ve çeşitli ekstraktlarının aktif bileşenlerinin immün sistem düzenleyici, anti- enflamasyon, hipoglisemik, antimikrobiyal antiparaziter, antioksidan ve anti kanser özellik gösterdiği tespit edilmiştir. *N. sativa* tohumları Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde halk hekimliğinde sağlık durumunu iyileştirmek için ateş, soğuk algınlığı, baş ağrısı, astım, romatizmal hastalıklar, mikrobiyal enfeksiyonlar, bağırsak solucanları ve kanser gibi bir çok rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (37,38). Örneğin; arı balmumu ve çörek otu yağı ile oluşan bir karışım, yanık, deri enfeksiyonları, eklem ağrısının tedavisinde, ya da bir kırışık önleyici ajan olarak kullanılabilir (39).

Tohum bileşiminde karbonhidratlar (glukoz, ksiloz, ramnoz, ve arabinoz), tiamin, riboflavin, piridoksin, niasin ve folik asit gibi vitamin, mineral madde (kalsiyum, demir ve potasyum), proteinler, alkaloidler (nigellidine, nigellimine ve nigellicine), %36 - %38 sabit yağ ve % 0.4 -% 2.5 esansiyel yağ gibi bileşenleri içerir (40).

Deneysel ve klinik farmakoloji alanları kapsamında tohumların farmakolojik etkilerinin ve aktif maddelerinin incelenmesi için son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Thymoquinone (tohumların uçucu yağı) ve melanin (sabit yağı) bu aktif bileşenlerden bazılarıdır (41).

Tohumların biyolojik aktivitesinin çoğu thymoquinonenin varlığına atfedilmektedir, büyük bileşeni uçucu yağ olmasına rağmen aynı zamanda sabit yağda bulundurmaktadır. Bu madde terapötik etki ve farklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkiden sorumludur (30).

4.5. Kullanılan Mikroorganizma İzolatları Hakkında Genel Bilgiler

4.5.1. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Stafilokokları ilk kez 1878'de Robert Koch tanımlarken, 1880'de Pasteur sıvı besiyerinde üretmeyi başarmış ve 1881'de İskoç Alexander Ogston fare ve kobaylar için patojen bir mikroorganizma olduğunu vurgulamıştır. Bakteri de görülen kümeleşmeler üzüm salkımına benzer görüntüsünden Grekçe staphyle (üzüm salkımı)'dan ismini almıştır (42).

Micrococcaceae ailesinde yer alan Staphylococcus üyeleri düzensiz üzüm benzeri kümeler oluşturan sıklıkla tek ve çift ya da tetratlar ve kısa zincirler oluşturan gram pozitif (0,5 – 1,5 µm çapında) koklardır. Stafilokoklar hareketsiz, sporsuz ve genellikle katalaz pozitifdir.

Koagülaz pozitif olması ile diğer Stafilokoklardan ayrılırlar. *S. aureus* koloni pigmentasyonuna sahip olup, en iyi aerobik üreme göstermekle birlikte anaerobik üremede gösterebilir. Kanlı agarda β hemoliz yaparlar. Sükroz, maltoz ve α-laktoz pozitifdir (43).

S. aureus' un virulans faktörleri; kapsül polisakkaritleri, peptidoglikan ve teikoik asit, protein A, enzimleri, hemolizinleri ve toksinleri olarak kabul edilir (44).

S.aureus'un doğal kaynağı insanlardır. *S.aureus* başta burun olmak üzere aksiller bölge, vagen, farinks veya yaralı deri bölgelerinde enfeksiyon oluşturmadan kolonize olabilir. Bakteriyemi ve sepsis, endokardit, metastatik enfeksiyonlar, pnömoni, osteomyelit, enfektif artrit ve deri enfeksiyonları gibi invaziv enfeksiyonlar ya da toksinlere bağlı olarak toksik şok sendromu, stafilokoksik soyulmuş deri sendromu ve besin zehirlenmelerinden sorumludurlar (45).

1960 yılında penisilinaz enzimlerine dayanıklı bir antibiyotik olan metisilin geliştirilmiş ve kullanıma girmiştir. Fakat 1961 yılında metisiline karşı direnç gelişmiştir. 1980'li yıllarda çoğul dirençli modern MRSA izolatları ortaya çıkmaya başlamıştır (46,47). MRSA nozokomiyal patojen olmasının yanı sıra toplum patojeni haline gelmiştir (43).

4.5.2. Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* (VRE)

Katalaz negatif, gram pozitif ve genellikle çiftler halinde veya zincirler oluşturmuş koklardır. Fakültatif anaerob bakterilerdir ve optimal üreme ısıları 35°C olmasına rağmen 10-45°C'lar arasında da üreyebilirler. Üremeleri için zengin besiyerine ihtiyaç duyarlar ve kanlı agarda alfa, non veya nadiren beta hemolitik koloniler oluştururlar. Enterokoklar yüksek tuz ve %40'luk safra tuzlarını içeren ortamlarda üreyebilirler, pirolidonil aril amidaz (PYR) testi pozitifdir ve eskülini hidrolize ederler. Optokin ve basitrasine dirençlidirler.

Enterokoklar normal gastrointestinal ve bilier sistemde ve az sayıda vagina ve erkek uretra florasında bulunurlar. Bu nedenle genellikle hastanın kendi bağırsak florasından kaynaklanan endojen enfeksiyonlara yol açarlar (45).

Vankomisin glikopeptid grubundan bir antibiyotik olup ciddi, yaşamı tehdit eden enfeksiyonlarda diğer antibiyotiklerle tedavisi başarısız olan gram-pozitif bakterilerin, tedavisi için kullanılmaktadır. Fakat aşırı kullanımı, endişe verici şekilde vankomisine dirençli enterokokların özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium*' un ortaya çıkmasına neden olmuştur (48).

4.5.3. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter cinsi uzun bir taksonomik geçmişe sahiptir. İlk kez 1911 yılında Hollandalı bir mikrobiyolog olan Beijerinck tarafından izole edilmiştir ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır. Günümüzdeki ismini alana kadar *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii* gibi çeşitli isimler kullanılmıştır (49). Brisou ve Prevat 1954 yılında morfolojik özelliklerin benzer olmasından yararlanarak mikroorganizmalar arasında hareketsiz olanlara Yunanca hareketsiz anlamına gelen “Akinetos” sözcüğünden yola çıkarak bu bakterilere “*Acinetobacter*” adını vermişlerdir (44).

Moraxellaceae ailesi içinde sınıflandırılmaktadırlar. *Acinetobacter* cinsi içerisinde DNA hibridizasyon çalışmalarına göre 31 genomik tür olarak tanımlanmış ve 17'si isimlendirilmiştir (50). *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomik tür 3TU ve *Acinetobacter* genomik tür 13TU arasında benzerlik göstermeleri ve fenotipik olarak ayırt etmenin zor olmasından dolayı, *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleks olarak adlandırılırlar (51).

Acinetobacter cinsi hareketsiz, zorunlu aerobik, kapsüllü, gram negatif kokobasillerdir. Doğada yaygın olarak bulunurlar. Toprakta ve sularda hatta gıda stoklarında çeşitli türleri bulunabilir (52). Oksidaz negatif, katalaz pozitif, nitratı nitrite indirgeyemezler. Yaklaşık 1–1.5µm x 1.5-2.5 µm boyutlarında çiftler halinde bulunurlar ve kolonileri Enterobacteriaceae ailesi üyelerine göre daha küçük, düzgün ve opak bazen mukoid, pigmentsiz, kubbe şeklinde, yüzeyleri oyuk veya düz görümlü olabilirler (43,51).

Genel besiyerlerinde 35-37°C'de üreme faktörlerine ihtiyaç duymadan üreyebilirler. Kanlı agarda 24 saat inkübasyon sonrasında 2-3 mm çapında koloniler oluştururlar. MacConkey Agar'da renksiz veya pembemsi koloniler oluştururlar (53).

Acinetobacter spp.'nin hastane infeksiyonlarının % 3-20'sinden sorumlu olduğu bilinmektedir. *A.baumannii-calcoaceticus* kompleksi klinik *Acinetobacter* izolatlarının % 80'ini oluşturmaktadır (54).

Acinetobacter cinsi antibiyotiklere karşı direnç geliştirmede çok yüksek bir yeteneğe sahiptir. Yapılan çalışmalar birçok antibiyotiğe karşı yüksek oranda direncin varlığını göstermektedir (51).

4.5.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Oksidaz pozitif, nonfermentatif, hareketli, aerop gram negatif basillerdir. Mavi piyosiyanın ve sarı flurescein pigmentleri nedeniyle enfeksiyonlarında oluşturduğu pürülan eksüda ve kültürlerindeki kolonileri yeşil renklidir. Bazı izolatlarında polisakkarit yapısında bir kapsül vardır ve izolatlar mukoid koloniler oluşturur. Kapsüllü *P. aeruginosa*'lar özellikle kistik fibrozisli hastalardan izole edilmektedir (45).

Aslında piyosiyanın varlığı *P. aeruginosa* tanımlamak için gerekli olan karakteristik özelliktir çünkü diğer nonfermantatif bakteriler sentezleyemezler. Birkaç *P. aeruginosa* izolatu piyorubin (kırmızı), piyomelanin (kahverengi veya siyah) ve piyoverdin (sarı) pigmenti üretir (44).

Fimbrialar, kapsül, endotoksin, ekzotoksin A, sitotoksin, fosfolipaz C, Ekzoenzim S, elastaz, piyosiyanine sahiptir. Endokardit, akciğer enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, göz enfeksiyonlarının etkenlerinden biridir (45).

4.5.5. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella cinsi bakteriler, H₂S üretmezler, fenilalanini deamine etmezler (55). Klebsiella'lar hareketsiz ve tüm bağırsak bakterileri gibi genel besiyerlerinde ürerler.

Optimal 37°C ve pH 7’de iyi ürerler. Katı besiyerlerindeki kolonileri, tipik mukoid yapıda, büyük, sarımtırak gri renkte kolonilerdir (56).

Klebsiella türleri su yüzeyleri, lağımlar, toprak ve bitkilerden oluşan çevrede ve insanlar, atlar veya domuzların mukozal yüzeylerine kolonize olurlar. *K. pneumonia* insanların nazofarenks ve intestinal yollarında saprofit olarak yaşar (56).

Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (GSBL) monobaktamları, penisilinleri ve geniş spektrumlu sefalosporinleri hidroliz eden fakat sefamisin ve karbapenemlere etkisi bulunmayan ve klavulanik asit tarafından inhibe edilen enzimlerdir (57). Enterobacteriaceae üyelerinin tümünde gösterilmiş olmakla birlikte, en sık GSBL üreten bakteri *K. pneumoniae*’dir (45). GSBL ciddi yaygın bir sorun haline gelmiştir (12).

4.5.6. *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia ilk olarak 1943 yılında Edwards tarafından “*Bacterium bookeri*” olarak adlandırılmıştır. Üremeleri için çok az besine gereksinimi olduğu için bunlara *Stenotrophomonas* ismi verilmiştir. “Malt”; filizlenmiş tohum , “philia”; sevmek anlamlarına gelmekte olup maltophilia da maltı seven anlamı taşımaktadır (58).

EMB, MacConkey ve kanlı agarda kolaylıkla ürer, fermentasyon yapamaz, ornitin dekarboksilaz ve üre hidrolizi negatif, izolatların %16-84’ü nitratı nitrite indirgebilir. Oksidaz testi negatiftir, ancak bazı izolatlarda zayıf pozitiflik görülebilir. Katalaz, lizin dekarboksilaz ve ortonitrofenilbeta- d-galaktopiranozid (ONPG) testi pozitifdir (44,58).

Hastane ortamında ve altta yatan bir hastalığı olan hastalarda idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, pnömoni, menenjit gibi enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojen bir bakteridir (45).

Stenotrophomonas maltophilia özellikle immun yetmezliği bulunan hastalarda enfeksiyonlardan sorumludur. *S.maltophilia* tedavide yaygın olan betalaktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere dirençli olduğundan bu ilaçlarla uzun süre tedavi alan hastalar için ciddi enfeksiyon riski taşımaktadırlar. *Stenotrophomonas* birçok gram negatif çomağın duyarlı olduğu karbapenemlere (imipenem, meropenem, ertapenem)

dirençlidir. Trimetoprim/sülfametoksazol bu bakteri için en etkili ajan olarak kabul edilsede son çalışmalarda bu antibiyotiğe karşı da direnç gelişimi gösterilmiştir (59).

4.5.7. *Sphingomonas paucimobilis*

İlk olarak *Pseudomonas paucimobilis* olarak tanımlanan bu tür daha sonra CDC grup İlk-1, 16S rRNA dizilimi ve kendine has sfingoglikolipid tiplerinin varlığına göre Sphingomonas olarak adlandırılmıştır.

Oksidaz zayıf pozitif, non-fermantatif, eksulin pozitif gram negatif bakterilerdir. Kanlı agarda yavaş üreme gösterirler, 24 saat inkübasyon sonrası küçük koloniler meydana gelir. Eski koloniler hardal sarısı renk alır. Optimal üreme ısısı 30°C olmasına rağmen 37°C'da üreme gerçekleşir.

S. paucimobilis polar kirpiği ile hareketli bir bakteri olma özelliğine sahiptir. Sıvı besiyerinde hareketli olmasına rağmen hücre sayısının azlığından hareketi göstermek zordur ve hareket 18-22°C'de gerçekleşir.

Su dahil çevrede yaygın olarak bulunurlar. Hastane ortamından, kan, BOS, yara örnekleri, vagen ve serviks gibi klinik örneklerden izole edilmektedir (43,44).

4.5.8. *Serratia marcescens*

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan *Serratia* cinsinin üyesidir. 1819'da ilk kez fırsatçı patojen olarak rapor edilene kadar patojen olmayan bir mikroorganizma olarak kabul edilmekteydiler. *S. marcescens* insanlar, hayvanlar ve böcekler için patojen tür olarak değerlendirilir (60).

Klinik örneklerin hepsinden üretilebileceği gibi en yaygın olarak solunum yolundan üretilmektedir. Suda, toprakta, bitkiler, hayvanlar ve böceklerde bulunabilirler (43).

Serratia marcescens oksidaz, indol, metil red negatif, Voges- Proskauer ve sitrat, lizin dekarboksilaz, DNaz, lipaz pozitif ve bazı biyotipleri kırmızı pigment üretimi olan hareketli gram negatif basillerdir (44).

S. marcescens menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni ve birçok farklı türde dahil olmak üzere diğer solunum yolu hastalıkları, kan akımı enfeksiyonu, endokardit, yara enfeksiyonları ve merkezi sinir sistemi hastalıklarına neden olur.

Serratia türlerinde görülen direncin çoğunluğunu *S. marcescens* oluşturur. Genellikle ampisilin, amoksisilin, amoksilin-klavunat, ampisilin-sulbaktam, dar spektrumlu sefalosporinler, sefamisin ve nitrofurantoine karşı dirençlidirler (60).

4.5.9. Candida türleri

Candida cinsi askomiçetler içindeki *Candidaceae* ailesinin bir üyesidir. Yaklaşık 200 üzerinde türe sahiptir fakat bunlardan sadece dokuzu insanda hastalık oluşturur: *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*, *Candida lusitaniae*, ve *Candida glabrata* (43).

Çeşitli Candida türleri kandidoza sebep olur. Kandidoz en çok görülen mikozdur ve en sık *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis* ve *Candida guilliermondii* izole edilen türlerdir.

Morfolojileri kültür ve dokuda oval ve tomurcuklanan, 3-6 µm boyutlarında maya hücreleridir. Tomurcukların uzayıp hücreden kopmaması ile yalancı hifler oluştururlar. Candida türleri katı besiyerinde oda ısısında veya 37°C'da kokulu yumuşak ve beyaz-krem koloniler oluştururlar. *C. albicans* diğer türlerden farklı olarak germ tüp ve klamidospore oluşturur.

Candida guilliermondii, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida lusitaniae*, *Candida krusei* ve *Candida kefyr* türlerini ayırt etmek için şeker fermantasyonu ve asimilasyon testleri kullanılır. *C. glabrata* patojenler arasında yalancı hif formu olmayan ve sadece maya hücresi oluşturan tek türdür (61).

Antifungallerin tedavi ve profilaksi amaçlı olarak sık kullanımı bazı mantar türlerinde direnç gelişimine neden olmuştur. Antifungal direnç gelişimi mevcut enfeksiyonlarda klinik, in vitro hatta moleküler açıdan gözlem ve çalışma yapılması gerekir. Antifungal direnç çoğunlukla yavaş gelişmekte ve ilaç hedeflerinde ya da transkripsiyon faktörlerindeki nokta mutasyona bağlı meydana gelmektedir. Konu ile ilgili çalışmaların çoğu Candida türleri üzerinde yapılmıştır. Antifungallere karşı oluşan primer ve sekonder direnç, in vitro direnci meydana getirmektedir ve son 30 yıldır artış gösteren mantar enfeksiyonları ile doğrudan ilişkilidir. Giderek artan antifungal direnci özellikle immun sistemi baskılanmış hastalar için tedavide ciddi sorun oluşturmaktadır (62, 63).

4.6. oğul Dirençli Mikroorganizmalar

Genel olarak, antimikrobiyal ajanlar arasında bir ya da daha çok sınıfa dirençli bakteriler çoğul dirençli olarak adlandırılmaktadır (MRSA, VRE, genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz [GSBL] üreten ya da doğal olarak dirençli gram-negatif basiller).

Çoğu durumda, çoğul dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonlar duyarlı patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara benzer klinik belirtileri göstermektedir. Ancak bu enfeksiyonların tedavisinde seçenekler genellikle son derece sınırlıdır. Örneğin, yakın zamana kadar, yaşamı tehdit eden MRSA enfeksiyonlarında kullanılan vankomisininin 1990'larda VRE'lerin ortaya çıkmasına neden olduğu anlaşılmış ve VRE enfeksiyonlarının tedavisinde hemen hemen hiçbir antimikrobiyal ajan kalmamıştır. Benzer şekilde, karbapenemler dışında tüm antibiyotiklere dirençli GSBL üreten gram-negatif basiller, *A. baumannii* izolatları ve karpenemlere doğal dirençli *S. maltophilia*'nın sebep olduğu enfeksiyonlar ciddi sorunlar haline gelmiştir.

oğul dirençli mikroorganizmaların yayılımları en sık hastaneler olarak tanımlanmış olmasına rağmen tüm ortamlarda olabilmektedir. Özellikle ülkeden ülkeye hatta hastaneden hastaneye sıklığı farklı olmakla birlikte yoğun bakım üniteleri bu patojenlerin bulunduğu en önemli yerlerdir. Bu patojenlerin yayılımı açısından her kurum özel tedbirler almalıdır. Bu mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonların önlenmesi toplum açısından oldukça önemlidir. Hastanelerde uzun yatış süreleri ve maliyetlerini azaltacaktır (64).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1 Gereç

5.1.1 Çalışma Grubu

Bu çalışmada KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hasta Hizmetleri Laboratuvarına Mayıs 2006 – Nisan 2013 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerinden izole edilmiş metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), vankomisine dirençli *E. faecium* (VRE), çoğul dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*, ESBL pozitif *K. pneumoniae*, *S. maltophilia*, *S. paucimobilis*, *S. marcescens*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* olmak üzere toplam 90 izolat çalışmaya dahil edildi. Bakteri izolatlarının numaraları, izolat isimleri ve materyalin gönderildiği birim Tablo 1’de verildi.

Tablo 1. İzolat numarası, izolat ismi ve materyalin gönderildiği birim

İzolat Numarası	İzolat İsmi	Materyalin Gönderildiği Birim
1	MRSA	Genel Cerrahi Servisi
2	MRSA	Üroloji Servisi
3	MRSA	Dahiliye – Hem. Servisi
4	MRSA	Dermatoloji Servisi
5	MRSA	Hematoloji Polikliniği
6	MRSA	Pediyatrik Nefr. Poliklinik
7	MRSA	Kardiyoloji Servisi
8	MRSA	Kardiyoloji Servisi
9	MRSA	Acil Poliklinik
10	MRSA	Nöroloji Yoğ. Bak Servisi
11	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Dahiliye – Onk. Servisi
12	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Dahiliye - Nefr Servisi
13	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Dahiliye Servisi-1
14	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Nöroloji Yoğ. Bak Servisi
15	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Ped.- Hem., Onkoloji Ser
16	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Bilinmiyor
17	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Kardiyoloji Servisi
18	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pediyatri Yoğ. Bak. Servisi
19	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Yenidoğan Yoğ. Bak Serv
20	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Kalp Damar Cerrahi Serv
21	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Yenidoğan Yoğ Bak. Serv
22	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pediyatri - Süt Çocuğu Srv
23	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pediyatri - Süt Çocuğu Serv
24	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Cerrahi Yoğ. Bak. Servisi
25	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Yenidoğan Yoğ Bak. Serv
26	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Cerrahi Yoğun Bakım Ser
27	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Yenidoğan Yoğ Bak. Serv
28	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Anestezi Yoğ. Bak Servisi
29	<i>Acinetobacter baumannii</i>	İnfeksiyon Servisi
30	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Pediyatri Yoğ. Bak Servisi
31	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Göğüs Hastalklı Yoğ Bak
32	<i>Acinetobacter baumannii</i>	İnfeksiyon Servisi
33	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Nöroloji Yoğ. Bak. Servisi
34	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Ortopedi Servisi

İzolat Numarası	İzolat İsmi	Materyalin Gönderildiği Birim
35	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Yanık Ünitesi
36	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Anestezi Yoğ Bak Servisi
37	<i>Acinetobacter baumannii</i>	İnfeksiyon Servisi
38	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Nöroloji Yoğ Bak Servisi
39	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Ortopedi Servisi
40	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric - Süt Çocuğu Serv
41	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric - Süt Çocuğu Serv
42	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bilinmiyor
43	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Üroloji Polikliniği
44	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	İnfeksiyon Polikliniği
45	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric Yoğ Bak Servisi
46	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	İnfeksiyon Servisi
47	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric Yoğ Bak Servisi
48	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric Yoğ Bak Servisi
49	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pediatric Yoğ Bak Servisi
50	VRE	Dahiliye - Nefroloji Serv.
51	VRE	Dahiliye - Onk Servisi
52	VRE	Dahiliye – Hemt. Servisi
53	VRE	Pediatric Nefr. Poliklinik
54	VRE	Göğüs Hastalıkları Servisi
55	VRE	Dahiliye - Hematoloji Srv.
56	VRE	Yenidoğan (Neonatoloji)
57	VRE	Göğüs Hastalıkları Servisi
58	VRE	Dahiliye - Gastro Servisi
59	VRE	Organ Nakli Ünitesi
60	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Göğüs Cerrahisi Servisi
61	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Dermatoloji Servisi
62	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pediatric Yoğun Bak Serv
63	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pediatric - Süt Çocuğu Serv
64	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Dahiliye - Nefroloji Serv
65	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Yenidoğan Yoğ Bak Serv.
66	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nöroşirurji Yoğun Bakım
67	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nöroloji Yoğ Bakım Serv.
68	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Üroloji Servisi
69	ESBL pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nöroşirurji Yoğun Bakım
70	<i>Serratia marcescens</i>	Pediatric - Süt Çocuğu Serv
71	<i>Serratia marcescens</i>	Plastik Cerrahi Servisi
72	<i>Serratia marcescens</i>	Ortopedi Servisi
73	<i>Serratia marcescens</i>	Dermatoloji Servisi
74	<i>Serratia marcescens</i>	Ortopedi Polikliniği
75	<i>Serratia marcescens</i>	Dahiliye - Endokrin Serv
76	<i>Serratia marcescens</i>	Göğüs Hastalıkları 2 Serv
77	<i>Serratia marcescens</i>	Nöroloji Yoğun Bak Serv
78	<i>Serratia marcescens</i>	Üroloji Servisi
79	<i>Serratia marcescens</i>	Göğüs Cerrahisi Servisi
80	<i>Serratia marcescens</i>	Kardiyovasküler
81	<i>Candida albicans</i>	İnfeksiyon Servisi
82	<i>Candida albicans</i>	İnfeksiyon Servisi
83	<i>Candida albicans</i>	Dahiliye- Onkoloji servisi
84	<i>Candida albicans</i>	Yenidoğan Yoğ Bak Serv
85	<i>Candida parapsilosis</i>	Yenidoğan Yoğ Bak Serv
86	<i>Candida glabrata</i>	Üroloji Servisi
87	<i>Candida parapsilosis</i>	İnfeksiyon Servisi
88	<i>Candida parapsilosis</i>	Beyin Cerrahi Servisi
89	<i>Candida parapsilosis</i>	Dahiliye Servisi
90	<i>Candida glabrata</i>	Genel Cerrahi servisi

5.1.2 Araç ve Gereçler

1.5 ml' lik santrifüj tüpleri, pipet ucu (10 µl, 100 µl, 1000 µl), Whatmann No:1 6mm lik boş diskler, U tabanlı 96 kuyucuklu pleyt gibi sarf malzemeler kullanıldı. Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı' na ait; 37°C' lik etüv (Memmert BM 600, Almanya), biyogüvenlik kabini (Chemocell LRCX-UV, Teknomar, Ankara), bunsen beki, -20°C (BEKO D7210 SMF, Türkiye) ve -80°C soğutucu (New Brunswic Scientific Mod U570 premium, Thermo, USA), +4°C buzdolabı (Arçelik, 2008), pastör fırını (Heraeus T550, Portekiz), dikey model otoklav (Kermanlar, İstanbul), Phoenix™ (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md, USA) cihazı, CrystalSpec™ nephelometer (USA), otomatik pipetler (Lab-mate, İngiltere), manyetik karıştırıcı (Stuart, İstanbul), vorteks (Heidolph, Almanya), buz makinesi (Scotsman AF 80, İtalya), hassas terazi (Sartorius Laboratory, Almanya), ve distile su cihazı (GFL, Ankara), Soxhlet aparatı, rotary evaporatör, liyofilizatör gibi cihazlar kullanıldı. McFarland bulanıklık tüpleri, havan, 250 ml' lik erlenmayer, 50 ve 100 ml' lik mezür, cam balon kullanıldı.

5.1.3 Kimyasallar

AST indikatörü, Gliserol (Riedel-de Haën AG, Germany), Glikoz (Biolab), Metilen mavisi (MERCK, Germany), DMSO (MERCK, Germany), n-Hekzan (MERCK, Germany), Metanol (MERCK, Germany), Aseton (MERCK, Germany), Etil asetat (MERCK, Germany), Kloroform (MERCK, Germany) kullanıldı.

5.1.4 Besiyerleri

% 15 Gliserollu Triptik Soy Broth :

30 g triptik soy Broth (OXOID,UK), 850 mL distile su ve 150 mL gliserolda eritildi . 1 atm basınç ve 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Steril 1.5 ml' lik santrifüj tüplerine 1 ml'lik hacimlerde dağıtıldı.

%20 Gliserollu Yeast- Pepton- Dekstroz :

%1 yeast (OXOID, UK), % 2 pepton (MERCK, Germany) ve %2 dekstroz (Difco Lab., USA) 800 mL distile su ve 200 mL gliserolda eritildi . 1 atm basınç ve 121°C' de

15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Steril 1.5 ml' lik santrifüj tüplerine 1 ml'lik hacimlerde dağıtıldı.

%5 Koyun Kanlı Agar:

33 g Tryptose Blood Agar (HIMEDIA, India) besiyeri 1000 ml distile suda eritildi ve 1 atm basınç 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Sonra 50 ml koyun kanı karıştırıldı ve petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu.

Mueller Hinton Agar Besiyeri:

38 g Mueller Hinton Agar (OXOID,UK) besiyeri 1000 ml distile suda eritildi ve 1 atm basınç 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu. Disk difüzyon testi uygulamaları için kullanıldı.

Kasyon Dengeli Mueller Hinton Broth Besiyeri :

22 g Kasyon dengeli Muller Hilton Broth (BD, France) besiyerinden 1000 ml distile suda eritildi . 1 atm basınç ve 121°C' de 15 dk otoklavlandı. Soğuduktan sonra mikro dilüsyon testi uygulamaları için kullanıldı.

Sabouraud Dekstroz Agar Besiyeri :

65 g Sabouraud Dekstroz Agar (OXOID,UK), besiyeri 1000 ml distile suda eritildi. 1 atm basınç ve 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu.

Mısır unu- Tween 80 Agar :

Mısır unu agar (corn meal agar) 4.25 gr'ı 250 mL distile su içinde çözüldü. % 1 oranında tween 80 ilave edildi. 1 atm basınç ve 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu.

% 2 Glikozlu Muller Hilton Agar Besiyeri :

38 g Mueller Hinton Agar (OXOID,UK) besiyeri, 20 gr Glukoz ve % 0,5lik stok Metilen mavisinden 100 µl karıştırıldı ve 1000 ml distile suda eritildi. 1 atm basınç ve 121°C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55°C' ye kadar soğutuldu. Petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu. Candida izolatlarının disk difüzyon testi uygulamaları için kullanıldı.

5.2 Yöntem

5.2.1 İzolatların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri

Çalışmada kullanılacak örnekler KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hasta Hizmetleri Laboratuvarında %5 koyun kanlı agar (Salubris, Türkiye) ve EMB agara (Oxoid, England) inokule edilerek 37°C'de 18-24 saat etüvde inkübe edildi.

Üreyen mikroorganizmalar klasik yöntemler ve laboratuvarında mevcut olan Phoenix identification/antimicrobial susceptibility testing (ID/AST) (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md, USA) cihazı ile üretici firma önerileri doğrultusunda tür düzeyinde identifiye edildi ve antimikrobiyal duyarlılık testleri çalışıldı.

İzolatların antibiyotik duyarlılıkları NMIC/ID-55, UMIC/ID-83, PMIC/ID-70 panellerinin kullanıldığı BD Phoenix sistemi ve standart disk difüzyon metodu ile araştırıldı (65). Duyarlılık testlerinin sonuçları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) göre değerlendirildi (66). İzolatlar çalışmaya kadar %15 gliserol içeren triptik soy buyyon besiyerinde -80 °C' de saklandı.

Maya izolasyonu için tüm örnekler SDA besiyerine inoküle edildi. SDA besiyerinde üreyen maya şüpheli koloniler, gram boyama ile mikroskopik olarak değerlendirildi. Maya görünümüne sahip olanlara germ tüp testi uygulandı. Germ tüp pozitifler *C. albicans*, olmayanlar *C. albicans* dışı kandida türleri olarak tanımlandı. Bu türlerin identifikasyonu için biyokimyasal temelli bir identifikasyon kiti olan API 20 C AUX (Biomerieux, France) ile tür düzeyinde identifiye edildi. Maya kolonileri Mısır

Unu- Tween 80 Agara çizgi ekim şeklinde inoküle edildikten sonra bu besiyerinde oluşan hifa ve blastosporların morfolojik görünüşleri tür tayinine destek olması için kullanıldı. İzolatlar %20 gliserollü yeast ekstarkt- pepton- dekstroz (YPD) saklama besiyerinde -80 °C’ de saklandı.

5.2.2. Ekstraktların Hazırlanması

5.2.2.1. Ekstraksiyon

Nigella sativa L. tohumları (Çörek otu) aktardan satın alındı. Ekstraksiyon işlemi Sökmen ve ark.’nın tarafından yapılan yöntem uygulanarak gerçekleştirildi (67).

Soxhlet aparatı üç bölüm içeriyordu. Cam balon, üzerinde odacık ve en üstte spiral soğutucu bulunmaktaydı. Çörek otu ekstraksiyon işleminde daha iyi sonuç alınması için havanda toz haline getirildi. 20 gram toz halindeki çörek otu ekstraksiyon için filtre kartuşa konuldu, üzeri hidrofob pamuk ile kapatıldı ve soxhlet aparatının odacık kısmına yerleştirildi.

Spiral soğutucunun üst kısmından metanolün buharlaşıp kaçmaması için pamuk ile kapatıldı. Cam balona 150 ml n-hekzan eklenerek düzenek kuruldu, spiral soğutucunun su giriş ve çıkışı ayarlandı ve ısıtıcı sayesinde ısıtılmaya başlandı.

İlk döngü tamamlanana kadar ısı yüksek daha sonra sabit ısı (60°C) altında işleme devam edildi. Ekstraktlar cam balonda toplanınca yeni bir düzenek kuruldu. Aynı kartuş bu defa metanolde çözülmesi için yeni cam balona 150 ml metanol konuldu. Düzenek kurularak yeniden ısıtılmaya başlandı ve sabit ısı (60°C) altında işleme devam edildi. Ekstraktlar cam balonda toplanınca sistem durduruldu.

5.2.2.2. Evaporasyon

Hekzan ve metanol ekstraktlarının evaporatör cihazı yardımı ile içlerinde bulunan çözücüler uzaklaştırıldı. Hekzan ekstraktı toplanıp steril 1,5 ml’lik santrifüj tüplerine bölünerek konuldu ve kullanılıncaya kadar +4 ° C ‘de saklandı.

5.2.2.3. Partitasyon

Metanol ekstraktı evaporatör balonu içinde yapışkan bir halde bulunmaktaydı. 1:1 oranında kloroform ve distile su içerisinde çözüldü. Tam olarak çözüldükten sonra ayırma hunisine aktarılarak fazların birbirinden ayrılması sağlandı. Ayırma hunisi içerisinde kloroform daha yoğun olduğu için alt kısımda toplandı. Ekstraktların apolar olanları kloroform içerisinde, polar olanları su içerisinde çözüldü. Tam olarak ayrılma işlemi gerçekleştirildikten sonra fazlar ayrı ayrı cam balonlara alındı.

5.2.2.4. Kaba Maddelerin Elde Edilmesi

Cam balondaki kloroform fazı evaporasyon işlemine tabi tutuldu. Su fazındaki suyun uzaklaştırılması için liyofilizatör kullanıldı. Elde edilen kaba maddeler steril şişelerde toplanarak +4 °C’de saklandı.

Farklı çözücülerin etkisini test edebilmek için etil asetat, aseton, metanol kullanıldı. Bu çözücüler ilk başta anlatılan soxhlette ekstraksiyon işleminden geçirildikten sonra elde edilen çözücü ve ekstrakt karışımının evaporasyon cihazında çözücülerini uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstraktlar 1,5 ml’lik steril santrifüj tüplerinde +4 °C’de saklandı.

5.2.3. Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması

5.2.3.1. Antibakteriyel Aktivite Deneyleri

Çeşitli klinik örneklerden elde edilmiş çoğul dirençli izolatlarla karşı ekstraktların antibakteriyel aktivitesi ilk olarak Kirby-Bauer metoduna göre, Mueller Hinton Agar (MHA) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon (broth dilüsyon) yöntemi ile araştırıldı.

5.2.3.1.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması

Çalışma izolatları saklama ortamından çıkarılarak bakteriler kanlı agara ve mayalar SDA’ya pasajlandı, 37°C’de bir gece inkübe edildi. İstenilen kolonileri elde etmek için tek koloni ekimi yapıldı. Her bir izolat için taze kültürlerinden içerisinde serum fizyolojik bulunan cam tüplerde 0.5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) bulanıklığında, test edilecek bakteri süspansiyonu hazırlandı.

5.2.3.1.2. Ekstraktların Disk Difüzyon Yöntemi ile Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ekstraktlar (kloroform, metanol, hekzan, etil asetat, aseton) DMSO içerisinde 100mg/mL olacak şekilde çözüldü. Boş disklerle (Whatmann No:1, 6 mm) 30µl emdirildi ve bir süre disklerin ekstraktları emmesi beklendi.

0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) bulanıklığa ayarlanmış bakteri süspansiyonları steril eküvyon çubuk yardımıyla MHA besiyerine homojen ekildi. Besiyerinin yüzeyinin kuruması beklendikten sonra daha önceden petrinin alt kısmına yazılan ekstrakt isimlerine göre diskler yerleştirildi.

Negatif kontrol olarak DMSO ve pozitif kontrol olarak MRSA için vankomisin (30 µg), VRE için linezolid (30 µg), *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* için kolistin (10 µg), *K. pneumoniae* ve *S. marcescens* imipenem (10 µg), *S. maltophilia* minosiklin (30 µg), *S. paucimobilis* trimetoprim/sülfametaksazol (1,25 / 23,75 µg) kullanıldı. İnkübasyon için 37° C’de 18-24 saat etüvde inkübe edildi.

Bu süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının ölçümü gerçekleştirildi (43). İnhibisyon zonlarında bir değişiklik olup olmayacağını kontrol için 1 gün daha etüvde bekletildi. Bu durumda zonlarda oluşan değişiklikler ölçüldü.

5.2.3.1.3. Ekstraktların Sıvı Mikrodilüsyon (Broth dilüsyon) Yöntemi ile Aktivitelerinin Belirlenmesi

0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) ayarlanmış bakteri süspansiyonunun istenilen koloni miktarını elde etmek için besiyerinde 1/150 olacak şekilde 100 µL bakteri süspansiyonundan 14900 µL KDMHB besiyeri içerisinde dilue edildi. Hazırlanan süspansiyonun değeri 1×10^6 CFU/mL oldu.

Ekstraktlar (kloroform, metanol, hekzan, etil asetat, aseton) DMSO içerisinde 200mg/ml olacak şekilde çözüldü. U tabanlı 96 kuyucuklu mikropleyitin her kuyucuğuna 100 µl KDMHB besiyerinden koyuldu. Ekstraktan ilk kuyucuğa 100 µl ilave edildi ve kuyucuk içerisinde karıştırıldıktan sonra 100µL alınıp ikinci kuyucuğa, ikinci kuyucuktan üçüncü kuyucuğa ve bu şekilde son kuyucuğa kadar 1/2 dilüsyon yapıldı. Son kuyucuktan alınan 100 µL atıldı. Böylelikle 100 mg/ml ile 0.05 mg/ml arasında konsantrasyonlar elde edildi. Bu işlem her ekstrakt için ayrı ayrı yapıldı.

Hazırlanan bakteri süspansiyonundan ekstraktların bulunduğu kuyucuklara 100 µL inoküle edildi. Son durumda kuyucukta 5×10^5 CFU/mL inokulum yoğunluğuna ulaşıldı. Pleytin bir sırasına negatif kontrol için sadece besiyeri, pozitif kontrol için bir sırasına ise besiyeri ve bakteri süspansiyonu eklendi.

Pleytler buharlaşma ve kontaminasyonun önlenmesi için kapakları kapatılıp 37° C 16-20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinden sonra değeriendirildi (43, 68).

6. BULGULAR

6.1. Araştırmaya Dahil Edilen İzolatların Genel Özellikleri

KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hasta Hizmetleri Laboratuvarına Mayıs 2006 – Nisan 2013 tarihleri arasında gönderilmiş olan 90 hastanın klinik örneklerinden izole edilmiş on adet metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), on adet vankomisine dirençli *E. faecium* (VRE), 12 adet çoğul dirençli *A.baumannii* ve on adet *P. aeruginosa*, on adet GSBL pozitif *K. pneumoniae*, on adet trimetoprim/sulfametoksazole (SXT) dirençli *S. maltophilia*, yedi adet *S. paucimobilis*, 11 adet *S. marcescens*, dört *C.albicans*, dört *C. parapsilosis* ve iki *C. glabrata* izolatları çalışmaya dahil edildi. *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aureuginosa* ATCC 27853 kalite kontrol izolatları olarak çalışıldı. İzolatların izole edildiği klinik örnek çeşitleri tablo 2' te verildi.

Tablo 2. İzolatların izole edildiği klinik örnek çeşiti

	idrar	yara	kan	püü	tak	katater	parasentez	BAL	Ameliyat m	Balgam	Kulak	
VRE	9	1										10
MRSA	2		7	1								10
<i>S. paucimobilis</i>	3		2			1	1					7
<i>S. maltophilia</i>		3			6	1						10
<i>A.baumannii</i>	2	2			5		1	1	1			12
<i>P.aureginosa</i>	2				8							10
<i>K.pneumoniae</i>		2	8									10
<i>S.marcescens</i>	1	4	1		1	1		1		2		11
<i>Candida</i> türleri	3		5				1				1	10
Toplam	22	12	23	1	20	3	3	2	1	2	1	90

6.2. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen izolatların antibakteriyal ajanlar için duyarlılık testleri çalışıldı. Çalışmaya dahil edilen izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları gruplar halinde verildi.

Tablo 3. MRSA izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	OX	CN	P	RF	TE	VA	SXT	TEC	LZD	DA	E
1	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R
2	R	S	R	S	R	S	S	S	S		
3	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R
4	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S
5	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S
6	R	S	R	S	S	S	S	S	S		
7	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R
8	R	S	R	R	I	S	S	S	S	R	R
9	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
10	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R

OX: Oksasilin (1 µg), CN: Gentamisin (10 µg), P: Penisilin (10 units), RF: Rifamisin (5 µg), TE: Tetrasiklin (30 µg), VA: Vankomisin (30 µg), SXT: Trimetoprim/Sülfametaksazol (1,25/ 23,75 µg), TEC: Teikoplanin (30 µg), LZD: Linezoid (30 µg), DA: Klindamisin (2 µg), E: Eritromisin(15 µg)

Tablo 4. *S. paucimobilis* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	FEP	CN	AK	CAZ	CİP	TZP	MEM	IPM
11	S	R	I	I	R	S	S	S
12	R	R	S	R	R	R	R	R
13	R	I	I	R	S	R	R	R
14	R	S	R	R	R	R	R	R
15	R	S	S	R	S	S	S	S
16	R	R	R	S	S	S	R	R
17	S	S	S	S	S	S	S	S

FEP: Sefepim (30 µg), CN: Gentamisin (10 µg), AK: Amikasin (30 µg), CAZ: Seftazidim (30 µg), CİP: Siprofloksasin (5 µg), IPM: İmipenem (10 µg), MEM: Meropenem (10 µg), TZP: Piperasilin/tazobaktam (100/10 µg)

Tablo 5. *S. maltophilia* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	CAZ	LEV	SXT	MI
18	R	S	R	S
19	R	R	R	S
20	S	S	R	S
21	R	R	R	S
22	R	S	R	S
23	R	R	R	R
24	S	R	R	S
25	R	R	R	S
26	S	S	R	
27	R	R	R	I

CAZ: Seftazidim (30 µg), LEV: Levofloksasin (5 µg), SXT: Trimetoprim/Sülfametaksazol (1,25/ 23,75 µg), MI: Minoksilin (30 µg)

Tablo 6. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AK	SAM	FEP	CAZ	CN	LEV	TZP	SXT	MEM	IPM	CT	CIP	CTX
28	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
29	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
30	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
31	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
34	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
35	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
36	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
38	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
39	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R

CN: Gentamisin (10 µg), SXT: Trimetoprim/Sülfametaksazol (1,25/ 23,75 µg), FEP: Sefepim (30 µg), AK: Amikasin (30 µg), CAZ: Seftazidim (30 µg), CIP: Siprofloksasin (5 µg), IPM: İmipenem (10 µg), MEM: Meropenem (10 µg), TZP: Piperasilin/tazobaktam (100/10 µg), LEV: Levofloksasin (5 µg), SAM: Ampisilin/sulbaktam (10/10 µg), CT: Kolistin (10 µg), CTX: Sefotaksim (30 µg)

Tablo 7. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AK	ATM	CAZ	FEP	CİP	IPM	MEM	TZP	LEV	CN
40	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
41	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
42	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
43	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
44	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
45	R	I	R	R	S	R	R	R	S	R
46	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
47	R	I	R	R	I	R	R	R	R	R
48	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
49	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R

CN: Gentamisin (10 µg), FEP: Sefepim (30 µg), AK: Amikasin (30 µg), CAZ: Seftazidim (30 µg), CIP: Siprofloksasin (5 µg), IPM: İmipenem (10 µg), MEM: Meropenem (10 µg), TZP: Piperasilin/tazobaktam (100/10 µg), LEV: Levofloksasin (5 µg), CT: Kolistin (10 µg), ATM: Aztreonam (30 µg)

Tablo 8. VRE izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	VA	AMP	LZD	TEC	P
50	R	R	S	R	R
51	R	R	S	R	R
52	R	R	S	R	R
53	R	R	S	R	R
54	R	R	S	R	R
55	R	R	S	R	R
56	R	R	S	R	R
57	R	R	S	R	R
58	R	R	S	R	R
59	R	R	S	R	R

VA: Vankomisin (30 µg), AMP: Ampisilin (10 µg), LZD: Linezoid (30 µg), P: Penisilin (10 units), TEC: Teikoplanin (30 µg)

Tablo 9. ESBL pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	ATM	CZ	SAM	FEP	FOX	CIP	SXT	TZP	MEM	IPM	CN	CAZ
60	R	R	R	R	S	S	R	I	S	S	R	R
61	R	R	R	R	S	R	R	I	S	S	R	R
62	R	R	R	R	S	S	R	I	S	S	R	R
63	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R
64	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R
65	R	R	R	R	S	S	R	I	S	S	R	R
66	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R
67	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R
68	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R
69	R	R	R	R	S	I	R	I	S	S	R	R

ATM: Aztreonam (30 µg), CAZ: Seftazidim (30 µg), CIP: Siprofloksasin (5 µg), CN: Gentamisin (10 µg), CZ: Sefazolin (30 µg), FEP: Sefepim (30 µg), FOX: Sefoksitin (30 µg), IPM: İmipenem (10 µg), MEM: Meropenem (10 µg), SAM: Ampisilin/sulbaktam (10/10 µg), SXT: Trimetoprim/Sülfametaksazol (1,25/23,75 µg), TZP: Piperasilin/tazobaktam (100/10 µg),

Tablo 10. *Serratia marcescens* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AK	ATM	CAZ	FEP	CIP	TZP	MEM	LEV	IPM	CN	SXT	SAM	FOX
70	S	R	R	S	S	I	S	S	S	R	R	R	R
71	S		I	I	S	R	S	S	S	R	R		I
72	S	I	I	S	S	I	S	S	S	R	R	R	
73	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R		I
74	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
75	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
76	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
77	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
78	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
79	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R	R
80	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R

AK: Amikasin (30 µg), ATM: Aztreonam (30 µg), CAZ: Seftazidim (30 µg), CIP: Siprofloksasin (5 µg), CN: Gentamisin (10 µg), FEP: Sefepim (30 µg), FOX: Sefoksitin (30 µg), IPM: İmipenem (10 µg), LEV: Levofloksasin (5 µg), MEM: Meropenem (10 µg), SAM: Ampisilin/sulbaktam (10/10 µg), SXT: Trimetoprim/Sülfametaksazol (1,25/23,75 µg), TZP: Piperasilin/tazobaktam (100/10 µg)

Tablo 11. *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık ve MİK sonuçları

	Amfoterisin B E-test	Flukonazol	Vorikanazol	Flusitozin	Itrakonazol	Kaspofungin
81	0.50	R	R	S	S	S
82	0.125	R	R	S	R	s
83	0.012	R	R	S	SDD	S
84	0,002					
85		R	S	S	S	S
86	0.25	SDD	S	S	R	
87		S	S	S	S	S
88		2	≤0.015			
89		4	0.03			
90	0.19	SDD	S	S	SDD	S

6.3. Ekstraktların Verimleri

Tüm ekstraktlara ait verimler Tablo 12’de verildi.

Tablo 12. Ekstraktların verim yüzdeleri

	Hekzan (%)	Metanol (%)	Aseton (%)	Etil Asetat (%)	Kloroform (%)
<i>Nigella sativa L.</i>	31,6	32,08	36,39	37,09	3,13

6.4. Ekstraktların Disk Difüzyon yöntemi ile aktiviteleri

İzolatların antimikrobiyal (antibakteriyal, antikandidal) aktivitelerinin kalitatif olarak belirlenmesi için öncelikle disk difüzyon yöntemi uygulandı. Hekzan, metanol, aseton, kloroform, etil asetat ekstraktları 100 mg/mL konsantrasyon kullanıldı. *S. aureus*, *E. faecium*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae*, *S. maltophilia*, *S. paucimobilis* klinik izolatları ve *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 izolatları in vitro şartlarda 37 C’de 18-24 saat inkübasyon sonrasında inhibisyon zon çapları mm cinsinden ölçülerek her bir ekstrakt için ayrı ayrı değerlendirildi.

Aseton ekstraktının 90 klinik izolattan 39 (%43), etil asetat ekstraktının 35 (%39), kloroform ekstraktının 27 (%30), metanol ekstraktı 32 (%36) ve hekzan ekstraktı 42 (%47) izolata karşı etkili olduğu tespit edildi.

Aseton ekstraktının 10 VRE, 10 *A. baumannii*, 9 *P. aeruginosa*, 9 *K. pneumoniae*, 11 *S. marcescens*, 1 *C. glabrata* ve 1 *C. parapsilosis* olmak üzere toplam 51 klinik izolat ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatında aktivite göstermediği tespit edildi. Yedi *S. maltophilia*, 2 *A. Baumannii*, 2 *C. albicans*, 2 *C. parapsilosis* ve 1 *C. glabrata* ve izolatlarında ve *E. coli* ATCC 25922 izolatında 7 mm inhibisyon zonu, 4 MRSA, 2 *S. paucimobilis*, 2 *S. maltophilia*, 1 *P. aeruginosa*, 1 *C. albicans* ve 1 *C. parapsilosis* izolatlarında 8 mm inhibisyon zonu, 4 MRSA, 1 *C. albicans* ve *S. aureus* ATCC 25923 izolatlarında 9 mm inhibisyon zonu, 2 *S. paucimobilis* izolatında 10 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* ve 1 MRSA izolatında 11 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 12 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* ve 1 *K. pneumoniae* izolatında 13 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 20 mm inhibisyon zonu ve 1 *S. paucimobilis* izolatında 36 mm inhibisyon zonu tespit edildi.

Etil asetat ekstraktı 1 *S. maltophilia*, 10 VRE, 12 *A. baumannii*, 8 *P. aeruginosa*, 9 *K. pneumoniae*, 11 *S. marcescens*, 2 *C. parapsilosis* ve 1 *C. glabrata* olmak üzere toplam 55 klinik izolat ve *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatlarında aktivite göstermediği tespit edildi. Altı *S. maltophilia*, 2 *P. aeruginosa*, 1 *C. glabrata* ve *E. coli* ATCC 25922 izolatlarında 7 mm inhibisyon zonu, 3 *S. maltophilia* 3 *C. albicans* ve 1 *C. parapsilosis* izolatı 8 mm inhibisyon zonu, 3 MRSA, 1 *S. paucimobilis* ve 1 *C. albicans* izolatı 9 mm inhibisyon zonu, 3 MRSA ve 2 *S. paucimobilis* izolatında 10 mm inhibisyon zonu, 2 MRSA, 1 *S. paucimobilis* ve 1 *K. pneumoniae* izolatında 11 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 12 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 13 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 15 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 16 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 20 mm inhibisyon zonu ve 1 *S. paucimobilis* izolatında 23 mm inhibisyon zonu tespit edildi.

Kloroform ekstraktı 3 *S. maltophilia*, 12 *A. baumannii*, 10 *P. aeruginosa*, 10 VRE, 10 *K. pneumoniae*, 11 *S. marcescens*, 2 *C. albicans*, 3 *C. parapsilosis* ve 2 *C. glabrata* olmak üzere toplam 63 klinik izolat, *E.coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa*

ATCC 27853 izolatlarına karşı aktivite göstermediği tespit edildi. İki *S. paucimobilis*, 3 *S. maltophilia* ve 2 *C. albicans* izolatında 7 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA, 2 *S. paucimobilis*, 3 *S. maltophilia* ve 1 *C. parapsilosis* izolatında 8 mm inhibisyon zonu, 4 MRSA izolatında 10 mm inhibisyon zonu, 2 MRSA ve 1 *S. paucimobilis* izolatında 11 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA ve *S. aureus* ATCC 25923 izolatında 12 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 13 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA 14 mm inhibisyon zonu, 2 *S. paucimobilis* izolatında 17 mm inhibisyon zonu tespit edildi.

Metanol ekstraktı 1 *S. maltophilia*, 12 *A. baumannii*, 10 *P. aeruginosa*, 10 VRE, 9 *K. pneumoniae*, 11 *S. marcescens*, 3 *C. parapsilosis* ve 2 *C. glabrata* olmak üzere toplam 58 klinik izolat, *E.coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatlarına karşı aktivite göstermediği tespit edildi. Bir MRSA, 4 *S. maltophilia*, 4 *C. albicans* ve 1 *C. parapsilosis* izolatında 7 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA, 1 *S. paucimobilis*, 5 *S. maltophilia* izolatında 8 mm inhibisyon zonu, 3 MRSA, 2 *S. paucimobilis*, 1 *K. pneumoniae* izolatında 9 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA, 1 *S. paucimobilis* ve *S. aureus* ATCC 25923 izolatında 10 mm inhibisyon zonu, 3 MRSA izolatında 11 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 13 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 14 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* 26 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* 40 mm inhibisyon zonu tespit edildi.

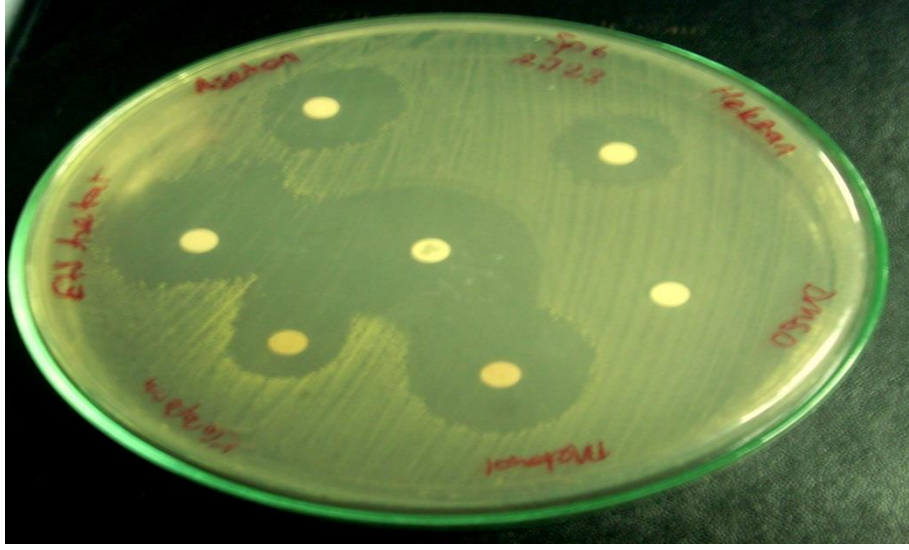
Hekzan ekstraktı 10 *A. baumannii*, 8 *P. aeruginosa*, 10 VRE, 9 *K. pneumoniae*, 11 *S. marcescens* olmak üzere toplam 48 klinik izolat ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatına karşı aktivite göstermediği tespit edildi. İki MRSA, 5 *S. maltophilia*, 2 *A. baumannii*, 2 *P. aeruginosa*, 1 *C. albicans*, 1 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* ve *E. coli* ATCC 25922 izolatında 7 mm inhibisyon zonu, 4 MRSA, 5 *S. maltophilia*, 2 *C. albicans*, 3 *C. parapsilosis*, 1 *C. glabrata* ve *S. aureus* ATCC 25923 izolatında 8 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA, 1 *S. paucimobilis* ve 1 *C. albicans* izolatında 9 mm inhibisyon zonu, 2 MRSA ve 3 *S. paucimobilis* izolatında 10 mm inhibisyon zonu, 1 MRSA izolatında 11 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 12 mm inhibisyon zonu, 1 *K. pneumoniae* izolatında 14 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 21 mm inhibisyon zonu, 1 *S. paucimobilis* izolatında 23 mm inhibisyon zonu tespit edildi. Ekstraktların 24 ve 48 saatlik disk difüzyon sonuçları Tablo 13'de verildi.

Tablo 13. Disk difüzyon testi sonuçları (inhibisyon zon çapları mm)

İzolât Numarası	24 saatlik sonuçlar							48 saatlik sonuçlar						
	Pozitif Kontrol	DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan	DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan	
1	17	6	9	11	12	11	8	6	9	9	10	9	8	
2	19	6	12	16	14	13	11	6	10	13	13	13	10	
3	17	6	8	9	10	9	8	6	6	9	6	8	6	
4	17	6	8	11	11	11	7	6	9	9	10	9	7	
5	25	6	11	13	13	10	10	6	9	10	10	10	9	
6	15	6	9	12	10	7	10	6	7	8	10	7	7	
7	15	6	8	9	10	9	8	6	8	8	10	9	7	
8	17	6	8	10	11	11	9	6	8	10	11	11	8	
9	15	6	9	10	10	9	7	6	6	6	6	6	6	
10	17	6	9	10	8	8	8	6	8	10	7	6	8	
11	15	6	8	10	8	8	9	6	8	9	8	8	8	
12	28	6	10	10	8	10	10	6	10	10	8	10	10	
13	28	6	13	15	11	14	12	6	13	15	11	14	12	
14	15	6	10	9	7	9	10	6	9	9	7	9	9	
15	25	6	20	20	17	26	21	6	18	14	12	18	17	
16	21	6	11	11	7	9	10	6	10	11	7	9	10	
17	36	8	36	23	17	40	23	8	36	23	17	36	23	
18	22	6	7	7	6	6	8	6	7	7	6	6	6	
19	20	7	7	8	7	7	8	7	7	7	7	7	7	
20	27	7	8	8	8	8	8	7	8	8	8	8	8	
21	15	6	7	7	6	8	7	6	6	7	6	6	7	
22	20	6	8	6	7	7	8	6	7	6	6	7	7	
23	15	6	7	7	8	8	7	6	7	7	7	8	7	
24	20	6	7	7	8	7	7	6	7	7	7	7	7	
25	22	7	7	7	7	8	8	7	7	7	7	8	8	
26	20	6	7	8	6	8	7	6	6	7	6	8	7	
27	19	7	8	7	7	7	7	7	8	7	7	7	7	
28	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
29	11	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
30	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
31	10	6	6	6	6	6	7	6	6	6	6	6	6	
32	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
33	9	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
34	8	6	7	6	6	6	7	6	6	6	6	6	6	
35	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
36	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	

	24 saatlik sonuçlar								48 saatlik sonuçlar					
	Pozitif Kontrol	DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan		DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan
37	9	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
38	12	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
39	11	6	7	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
40	9	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
41	9	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
42	10	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
43	12	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
44	13	6	6	7	6	6	7		6	6	6	6	6	6
45	14	6	6	6	6	6	7		6	6	6	6	6	6
46	10	6	8	7	6	6	6		6	6	6	6	6	6
47	10	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
48	9	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
49	10	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
50	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
51	20	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
52	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
53	20	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
54	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
55	17	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
56	19	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
57	15	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
58	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
59	14	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
60	22	6	13	11	6	9	14		6	12	10	6	8	13
61	20	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
62	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
63	22	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
64	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
65	16	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
66	17	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
67	20	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
68	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
69	21	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
70	16	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
71	18	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
72	22	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
73	17	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6
74	19	6	6	6	6	6	6		6	6	6	6	6	6

	24 saatlik sonuçlar							48 saatlik sonuçlar					
	Pozitif Kontrol	DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan	DMSO	Aseton	Etil Asetat	Kloroform	Metanol	Hekzan
75	17	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
76	20	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
77	16	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
78	18	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
79	21	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
80	18	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
81		6	7	8	6	7	9	6	6	6	6	6	8
82		9	9	8	7	7	8	6	8	6	6	6	8
83		6	7	8	6	7	7	6	6	6	6	6	6
84		6	8	9	7	7	8	6	6	6	6	6	6
85		6	7	6	6	7	7	6	6	6	6	6	6
86		6	7	7	6	6	8	6	6	6	6	6	8
87		6	6	6	6	6	8	6	6	6	6	6	6
88		6	7	6	6	6	8	6	6	6	6	6	6
89		7	8	8	8	6	8	6	8	6	6	6	8
90		6	6	6	6	6	7	6	6	6	6	6	7
ATCC 25922 E.coli	17	6	7	7	6	6	7	6	7	6	6	6	7
ATCC 25923 S.aureus	17	6	9	6	12	10	8	6	6	6	8	9	8
ATCC 27853 P. aeruginosa	11	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6



Resim 1. *S. paucimobilis* izolatlarından birinin disk difüzyon fotoğrafı

6.5. Ekstraktların Sıvı Mikrodilüsyon (Broth dilüsyon) Yöntemi ile Aktiviteleri

Disk difüzyon yöntemi ile en az bir ekstrakta karşı zon çapı oluşan izolatların antimikrobiyal aktivitelerinin kantitatif olarak belirlenmesi için sıvı mikrodilüsyon (Broth dilüsyon) yöntemi uygulandı. Hekzan, metanol, aseton, kloroform, etil asetat ekstraktlarından 100 mg/mL ile 0.05 mg/mL arasında konsantrasyonlar değerlendirildi.

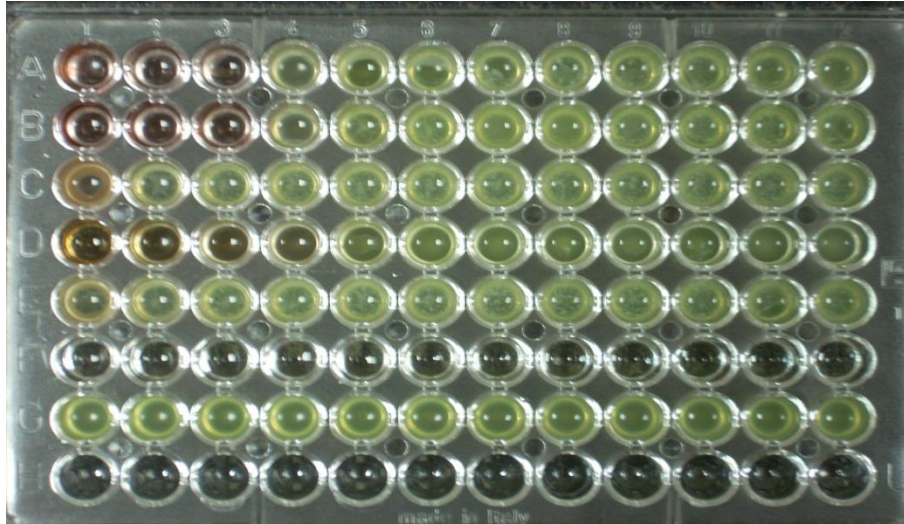
Hekzan ekstraktı 0.2 mg/mL olmak üzere en düşük konsantrasyonu 1 MRSA, 1 *S. paucimobilis* ve ATCC 25923 *S. aureus* izolatlarına karşı gösterdiği tespit edildi. En yüksek konsantrasyonu ise ≥ 100 mg/mL ile *P. aeruginosa*'ya karşı gösterdiği tespit edildi.

Metanol ekstraktı 0.4 mg/mL olmak üzere en düşük konsantrasyonu 2 MRSA ve 2 *S. paucimobilis* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi. En yüksek konsantrasyonu ise ≥ 100 mg/mL ile *S. maltophilia*'ya karşı gösterdiği tespit edildi.

Aseton ekstraktı 0,1 mg/mL olmak üzere en düşük konsantrasyonu 1 *S. paucimobilis* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi. En yüksek konsantrasyonu ise ≥ 100 mg/mL ile 1 *P. aeruginosa* ve 1 *S. maltophilia* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi.

Kloroform ekstraktı 0.1 mg/mL olmak üzere en düşük konsantrasyonu 2 *S. paucimobilis* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi. En yüksek konsantrasyonu ise ≥ 100 mg/mL ile 1 *P. aeruginosa*, 1 *S. maltophilia* ve 1 *A.baumannii* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi.

Etil asetat ekstraktı 0.2 mg/mL olmak üzere en düşük konsantrasyonu 2 MRSA ve 1 *S. paucimobilis* izolatına karşı gösterdiği tespit edildi. En yüksek konsantrasyonu ise ≥ 100 mg/mL ile 2 *P. aeruginosa* 'ya karşı gösterdiği tespit edildi. Disk difüzyon testinde aktivite görülen izolatların MİK değerleri Tablo 14'de verilmiştir.



Resim 2. Sıvı mikrodilüsyon testi fotoğrafı

Tablo 14. İzolatların MİK değerleri (mg/mL)

İzolat Numarası	Heksan	Metanol	Aseton	Kloroform	Etil Asetat
1	0.4	0.8	0.4	0.4	0.4
2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2
3	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
4	0.4	0.8	0.4	0.4	0.4
5	0.8	0.8	0.4	0.8	0.4
6	0.2	0.8	0.2	0.4	0.2
7	0.4	0.8	0.4	0.8	0.4
8	0.8	1.6	0.8	0.8	0.8
9	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
10	0.4	1.6	0.4	0.8	0.8
11	6.25	6.25	3.125	100	3.125
12	3.125	100	0.4	100	1.6
13	3.125	3.125	3.125	100	1.6
14	1.6	1.6	0.8	50	0.8
15	0.2	0.4	0.2	0.1	0.2
16	12.5	6.25	12.5	100	3.125
17	0.4	0.4	0.1	0.1	0.4
18	50	100	25	50	25
19	25	≥ 100	25	50	25
20	25	25	12.5	100	12.5
21	25	100	25	50	25
22	25	50	25	≥100	25
23	25	12.5	25	100	25
24	100	100	≥100	50	50
25	50	50	25	50	25
26	25	50	25	50	25
27	6.25	6.25	6.25	100	6.25
31	25	12.5	25	100	25
34	25	50	12.5	≥100	25
39	25	50	25	50	12,5
44	50	100	50	≥100	50
45	≥100	25	50	100	≥100
46	25	25	≥100	100	≥100
60	50	50	100	100	50
ATCC 25923 <i>S. aureus</i>	0.2	0.8	0.4	0.4	0.4
ATCC 25922 <i>E.coli</i>	50	50	50	≥100	50

6.6. İstatistiksel Analizler

Verilere hangi analizlerin yapılacağına karar vermeden önce verilerin normal dağılıp dağılmadığı incelendi. Shapiro-Wilks Testi'ne göre maddelerin dağılımının normal dağılıma uymadığı gözlemlendi ($p < 0.05$).

Ekstraktların zaman açısından (24 saatlik-48 saatlik) aralarında fark olup olmadığının incelenmesi için parametrik olmayan testlerden Wilcoxon Testi kullanıldı. Wilcoxon testi, değerleri sıralamak ve karşılaştırmak için iki farklı zaman dilimine (24 saatlik-48 saatlik) dönüştürür ve bu iki zaman dilimi arasında değerlerde bir değişim olup olmadığını test eder (69). Tablo 15'de bu testin sonuçları verildi.

Tablo 15. Wilcoxon Signed Rank testi sonuçları

	Saat	Ortalama	Standart Sapma	Z	p
Aseton	24	7.47	3.70	-4.20	0.000*
	48	7.13	3.57		
Etil Asetat	24	7.53	2.98	-3.96	0.000*
	48	7.05	2.49		
Kloroform	24	7.06	2.28	-3.36	0.001*
	48	6.75	1.85		
Metanol	24	7.48	4.32	-3.35	0.001*
	48	7.15	3.62		
Hekzan	24	7.37	2.70	-4.48	0.000*
	48	7.00	2.42		

(*) $p < 0.05$

Tablo 15'e göre, Aseton, etil Asetat, kloroform, metanol ve hekzan ekstraktlarının izolatlara 24 saat uygulanması ile 48 saat uygulanması arasında anlamlı bir değişim olduğu görüldü ($p < 0.05$). Ayrıca tüm ekstraktların 48 saatlik uygulama sonrasında ortalamalarda anlamlı bir düşüş oldu.

İzolatlara uygulanan Aseton, etil Asetat, kloroform, metanol ve hekzan ekstraktlarının arasında fark olup olmadığını belirlemek için verilere Kruskal-Wallis testi uygulandı. Bu test sürekli değişkenlere sahip üç ya da daha fazla bağımsız grup için karşılaştırma yapmayı sağlar. Değerler sıralı hale çevrilir ve her grup için sıralı ortalamalar karşılaştırılır. Bu testin sonuçları Tablo 16'de verildi.

Tablo 16. Kruskal-Wallis testi sonuçları

	Madde	N	Ortalama Sırası	Ki-Kare Değeri	p
24 Saat	Aseton	90	232.69	4.43	1.77*
	Etil Asetat	90	229.71		
	Kloroform	90	207.28		
	Metanol	90	218.53		
	Hekzan	90	239.28		
48 Saat	Aseton	90	226.88	0.35	0.78*
	Etil Asetat	90	228.25		
	Kloroform	90	214.68		
	Metanol	90	223.33		
	Hekzan	90	234.36		

(*) $p > 0.05$

Tablo 16'ye göre, ekstraktların 24 saat uygulanması sonucunda aseton, etil asetat, kloroform, metanol ve hekzan ekstraktları arasında etki bakımından anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=1.77 > 0.05$). Ayrıca 48 saat uygulama sonucunda da aseton, etil asetat, kloroform, metanol ve hekzan ekstraktlarının etkileri arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0.78 > 0.05$). Ortalama sırası sütunundaki değerler ekstraktlardan hangisinin en yüksek etkiye sahip olduğunu gösterir. Buna göre 24 saatlik ve 48 saatlik uygulamalarda disk difüzyon yöntemine göre en çok etkiye sahip ekstrakt hekzan, en düşük etkiye sahip madde ise kloroform'du.

Ekstraktların izolatlarda oluşturduğu inhibisyon zonunun 6'dan büyük (>6) ya da eşit (≤ 6) olarak sınıflandırılmalarına göre değişip değişmediğini belirlemek için Ki-Kare Uygunluk testi yapıldı. Ki-Kare Testi'nde amaç, ekstraktların aldığı değerlerin sınıflarına göre gerçekleşen etkilerinin, beklenen değerlerinden (0.50) farklı olup olmadığını belirlemektir. Başka bir deyişle, gözlenen yüzdelerle beklenen yüzdelerin uygunluğunu test etmektir. Tablo 17'de Ki-Kare testi'nin sonuçları verildi.

Tablo 17. Ki-Kare Uygunluk testi sonuçları

Madde	Sınıf	Gözlenen %	Beklenen %	Ki-Kare	Serbestlik derecesi	p
Aseton	<=6	0.57	0.50	1.60	1	0.206
	>6	0.43	0.50			
Etil Asetat	<=6	0.61	0.50	4.44	1	0.035*
	>6	0.39	0.50			
Kloroform	<=6	0.70	0.50	14.4	1	0*
	>6	0.30	0.50			
Metanol	<=6	0.64	0.50	7.51	1	0.006*
	>6	0.36	0.50			
Hekzan	<=6	0.53	0.50	0.4	1	0.527
	>6	0.47	0.50			

(*) $p < 0.05$

Tablo 17'e göre, Etil Asetat, kloroform ve metanol ekstraktları değerlerinin ≤ 6 ve > 6 olmaları arasında anlamlı farklılık vardı. Aseton ve hekzan ekstraktlarında ise bu bakımdan bir farklılık yoktu. Bir başka deyişle, Etil asetat, kloroform ve metanol ekstraktlarının etkilerinin 6'dan büyük ya da küçük olması istatistiksel olarak anlamlı iken, aseton ve hekzan ekstraktlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Etil asetat, kloroform ve metanol ekstraktlarında anlamlı bir fark olmasına rağmen beklenen değere ulaşamadı.

Tablo 18. Kruskal Wallis testi

Madde	N	Ortalama	Ki-Kare Değeri	p
Hekzan	34	20.28	10.58	0.032*
Metanol	34	30.63		
Aseton	34	20.09		
Kloroform	34	53.21		
Etil Asetat	34	18.35		

(*): $p < 0.05$

Sıvı mikrodilüsyon (Broth dilüsyon) yönteminin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Tablo 18'e göre ekstraktların minimal inhibisyon konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark mevcuttu.

Tablo 19'da Hekzan ekstarktı ile kloroform ekstraktı arasında, aseton ekstraktı ile kloroform ekstraktı arasında ve kloroform ekstraktı ile etil asetat ekstraktı arasında minimal inhibisyon konsantrasyonu bakımından fark vardı. Bu tabloya göre MİK değerleri bakımından en yüksek ve diğerlerinden en farklı değerlere sahip olan ekstrakt kloroform ekstraktı (Ortalama=53.21) ve en düşük değere ise etil asetat ekstraktının sahip (Ortalama=18,35) olduğu istatistiksel olarak görüldü. Bu durum kloroform ekstraktının MİK değerlerinin yüksek olması etkisinin daha az olacağını, etil asetat ekstraktının MİK değerlerinin ise düşük ve etkisi daha fazla olacağını düşündürdü.

Tablo 19. İkili karşılaştırmalar (Mann-Whitney U Testi)

Madde 1	Madde 2	Mann-Whitney U	Z	p
Hekzan	Metanol	485.00	-1.15	0.250
	Aseton	540.50	-0.47	0.640
	Kloroform	378.00	-2.48	0.013*
	Etil Asetat	546.00	-0.40	0.690
Metanol	Aseton	461.00	-1.45	0.148
	Kloroform	477.50	-1.25	0.211
	Etil Asetat	461.00	-1.45	0.148
Aseton	Kloroform	372.00	-2.55	0.011*
	Etil Asetat	570.00	-0.10	0.921
Kloroform	Etil Asetat	376.00	-2.50	0.012*

(*): $p < 0.05$

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sağlık sorunları; nüfusun kontrolsüz artması, beslenme düzenlerindeki yetersizlikler ve sanayi ürünlerinin insan hayatına etkisi ile artış göstermektedir. Sorunların artması ve bilimdeki ilerlemeler insanları doğada bulunan kaynaklardan çözüm aramaya zorunlu kılmıştır. Doğanın kaynaklarının da sınırlı olmasından dolayı kaynakları çok amaçlı kullanmak gerekmektedir. Diğer bir yönden bakıldığında enfeksiyon hastalıklarında mikroorganizmalara karşı doğal ya da sentetik şimdiye kadar üretilmiş antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan bir direnç gelişmektedir. Bilim insanları da yeni antimikrobiyal ajanlar aramaya başlamışlar ve bitkilerden elde ettikleri drogları çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanabilmek için araştırmalar yapmışlardır (70).

Çeşitli araştırmalarda *N. sativa* L.'nin antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler içerdiği ortaya konulmuştur (2,40).

Çalışmamızda on adet MRSA, on adet VRE, 12 adet çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* ve on adet *P. aeruginosa*, on adet ESBL pozitif *K. pneumoniae*, on adet trimetoprim/sulfametoksazol (SXT) dirençli *S. maltophilia*, çeşitli antibiyotiklere dirençli yedi adet *S. paucimobilis* ve onbir adet *Serratia marcescens*, dört adet *C. albicans*, dört adet *C. parapsilosis* ve iki adet *C. glabrata* klinik izolatlarına karşı aktivite değerlendirildi.

Hanafy ve Hatem (9) çalışmalarında *Nigella sativa* tohumlarının dietil eter ekstraktının doza bağımlı (25–400 µg /disc) olarak gram pozitif ve gram negatif bakterilerde aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda farklı çözücüler ile olsa da Hanafy ve ark. (9) çalışmasına benzer şekilde gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etki gözlenmiştir.

Singh ve ark. (71) çalışmalarında *N. sativa* L.'nin uçucu yağı ve aseton ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Soxhlet yöntemi ile hazırlanan aseton ekstraktının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile çeşitli mikroorganizmalara karşı aktivitesi tespit edilmiştir. Çörek otunun uçucu yağının 2000 ve 3000 ppm konsantrasyonda agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı inhibisyon zonu oluşturduğu

gözlenmiştir. Fakat hem uçucu yağı hem de aseton ekstraktı *Escherichia coli* ve *Salmonella typhi* izolatlarına karşı aktivite göstermemiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda aseton ekstraktı ile *S. aureus* izolatlarının hepsinde ve *P. aeruginosa* izolatlarının sadece birinde inhibisyon zonu tespit edilmişken farklı olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatında inhibisyon zonu tespit edilemedi.

Dadgar ve ark. (31) çalışmasında *N. sativa* L.'ninde aralarında bulunduğu 23 tıbbi bitki antimikrobiyal aktiviteleri yönünden incelenmiştir. Çalışmada etanol ve su ekstraktı disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile sekiz MRSA ve dört MSSA izolatına karşı çeşitli inhibisyon zonu oluşturdukları gözlenmiştir. *N. sativa* L. etanol ekstraktı 4-0.5 mg/disk konsantrasyonlarına bağlı olarak MRSA izolatlarında 13-19 mm arasında inhibisyon zon çapı ve sulu ekstraktı ise sadece 4 mg/disk 1 mm zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir. MSSA izolatlarına karşı sadece etanol ekstraktı 14-10 mm arasında inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. MİK değerleri ise hem MRSA hem de MSSA için 0.04 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da MRSA izolatlarında ekstraktlar arası değişiklik görülmekle birlikte 7 ile 16 mm arasında zon çapı belirlenmiştir. MİK değerleri de Dadgar ve ark. çalışması ile uyumlu şekilde 0.2 mg/mL ile 1.6 mg/mL arasında olmakla birlikte genellikle 0.4 mg/mL'dir.

Hannan ve ark. (72) çalışmasında MRSA izolatları üzerinde *N. sativa* L.'nin etanol ekstraktı incelenmiştir. Çalışmada aktivite belirlemek için disk difüzyon ve agar dilüsyon kullanılmıştır. Disk difüzyon sonuçlarına göre 4 mg/disk konsantrasyon MRSA izolatlarını inhibe (>12 mm zon çapı anlamlı olarak alınmış) etmiştir. Bununla birlikte 0.5 mg/disk konsantrasyon izolatların herhangi birini inhibe etmekte yeterli olmamıştır. Bizde çalışmamızda 100mg/mL'lik ekstrakt konsantrasyonlarından 30 µL disklerle emdirilmesi sonucu 3 mg/disk ile MRSA izolatlarında Hannan ve ark.larının sonuçlarına benzer zon çapları elde ettik. Fakat bizim çalışmamızda etanol ekstraktı yerine metanol, aseton, etil asetat ve kloroform ekstraktı test edildi.

Salman ve ark. (4) çalışmalarında *N. sativa* L. tohumlarının yağının çoğul dirençli klinik izolatlar üzerinde etkisini incelemiştir. Toplam 144 klinik izolat test etmişler ve yağın 97 izolatı inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Standart izolatlardan *S. aureus* (Oxford NCTC 6571, ATCC 25923) ve *P. aeruginosa*'ya (NCTC 10662, ATCC 27853) karşı doza bağımlı aktivite göstermiştir fakat *E. coli*'ye (NCTC 10418, ATCC 25922) karşı

aktivite göstermemiştir. Klinik izolatlardan *Staphylococcus epidermidis* ve diğer katalaz negatif Stafilokoklar, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı çörek otu yağı 4 µl/disk (1:1 ile 1:50) konsantrasyonlarda çeşitli zon çapları oluşturmuştur. *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus agalactiae* ve *Vibrio cholerae*'ya karşı çörek otu yağının test edilen konsantrasyonları inhibe edici etki oluşturamamıştır. Salman ve ark. (4) çalışması ile paralel olarak *S. aureus* ATCC 25923 ve *P. aeruginosa* (n:2) klinik izolatlarında hekzan ekstraktı yani çörek otu sabit yağının antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir. Bizim çalışmamız da Salman ve ark.(4) çalışmasından farklı olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* (n:1) klinik izolatında hekzan ekstraktının inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlendi.

Taniş ve ark. (3) Türkiye'de yetişen dört *Nigella spp.* türüne ait çeşitli kısımların antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Soxhlet yöntemi ile kloroform, aseton ve metanol ekstraktları elde edilmiş ve disk difüzyon yöntemi kullanılarak nitel bir belirleme yapılmıştır. *Nigella spp.* bitki kısımları arasında önemli antimikrobiyal aktiviteyi *Nigella sativa* tohumlarının (çörek otu) aseton ekstraktı göstermiştir. Gram negatif ve gram pozitif bakteriler olmak üzere geniş etki spektrumuna sahip olmakla birlikte en az etkiyi *K. pneumoniae*'ya karşı göstermiştir.

Bizim çalışmamızda *N. sativa* tohumlarının aseton ekstraktının kullandığımız toplam 90 izolattan 39 (%43) 'una karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. Taniş ve ark.larının çalışması ile uyumlu olarak *K. pneumoniae* izolatlarımızın 10'undan sadece bir tanesinde aktivite görüldü.

Alam ve ark. (2) çalışmasında *N. sativa* L.'nin kloroform ve etanol ekstraktının çoğul dirençli *S. aureus* ATCC 103207, *B. cereus* ATCC 6623, *B. subtilis* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 12079, *V. Cholerae*, *K. pneumoniae* ATCC 13883 izolatlarına karşı aktivitelerini incelemiştir. Ekstraktlar süspansiyon yöntemi ile elde edilmiş ve etkinlikleri nitel olarak disk difüzyon yöntemi, nicel etkinlikleri tüp dilüsyon yöntemi kullanılarak ortaya koyulmuştur. *E. coli* ve *K. pneumoniae* haricindeki izolatlar kloroform ekstraktına karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Etanol ekstraktına karşı ise sadece *K. pneumoniae* izolatu dirençli bulunmuştur. Çörek otu en yüksek etkiyi *B. subtilis* (MİK değeri: 375 µl/mL) ve *S. aureus* (MİK değeri: 1125 µl/mL)' a karşı

gösterirken en düşük etkiyi *E. coli* (MİK değeri: 3000 µl/mL) 'ye karşı göstermiştir. Bu sonuçlar çörek otunun çoğul dirençli bakterilere karşı potansiyel antibakteriyel aktiviteye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da kloroform ekstraktı *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* klinik izolatlarına karşı etki göstermemiştir. Alam ve ark.larının çalışması ile bizim çalışmamız arasında ekstrakt elde etme yöntemi ve MİK değerlendirmesi açısından farklar bulunmakla birlikte benzer sonuçlar elde edildi.

Aslam ve ark. (73) *N. sativa* L. etanol ekstraktının 72 MRSA izolatına karşı etkinliğini disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Ekstraktların 5 mg/disk (≥ 15 mm zon çapı anlamlı) konsantrasyonda izolatların %90.3'ünü inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Doza bağımlı aktivite olduğunu 2mg/disk konsantrasyonda ise izolatların neredeyse hiçbirini inhibe edemediğini belirtmişlerdir.

Mishra'nın (40) çalışmasında *N. sativa* L.'nin su, metanol, etanol ve etil asetat ekstraktlarının *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* karşı aktivitelerini incelemiştir. Ekstraksiyon işlemini süspansiyon metodu kullanarak gerçekleştirmiştir. DMSO içerisinde 100 mg/mL konsantrasyon hazırlanmıştır. Su ekstraktı izolatların hiçbirinde inhibisyon oluşturamamıştır. Metanol ve etanol ekstraktı *S. aureus* ve *P. aeruginosa* izolatlarını inhibe etmiştir. Etil asetat ise test edilen 3 izolatıda inhibe etmiştir. Etil asetat ekstraktı *S. aureus* 16 mm, *P. aeruginosa* 15 mm ve *E. coli* 13 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. MİK değeri ise *S. aureus* ve *P. aeruginosa* için 4 mg/mL'dir. Çalışmamızda Mishra'nın çalışması ile uyumlu olarak metanol ekstraktı *S.aureus* ATCC 25923 izolatında 10 mm zon oluşturmuştur fakat *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatına karşı aktivite göstermediği için uyumlu değildir. Etil asetat ekstraktı ise *E. coli* ATCC 25922 izolatında etki gösterirken *S. aureus* ATCC 25923 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatlarında etki göstermedi.

Harzallah ve ark. (74) çörek otunun uçucu yağı ve içerisinde bulunan thymoquinone'nin antibakteriyal etkisini incelemişlerdir. Uçucu yağ *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus constellatus* ve *Gemella haemolysans* karşı 2.43 mg/disk konsantrasyonda 13.5 ile 15.5 mm arasında aktivite göstermiştir. Ayrıca *E. faecalis*, *E. faecium* ve *S. salivarius*'e karşı etki göstermemiştir. Thymoquinone *S. mutans* ve *S. mitis* (24.5 ± 0.71 ve 22 ± 1.41 mm)

karşı iyi bir aktivite sahip olduğu görülmüştür. Hatta *E. faecalis*, *E. faecium* ve *S. salivarius*'e karşı zayıfta olsa bir aktivite göstermiştir. MİK değerleri ise uçucu yağ için *S. mitis*, *S. mutans*, *S. constellatus* ve *G. haemolysans* için 2.13 mg/mL fakat *E. faecalis* ve *E. faecium* için > 8.5 mg/ mL yani test edilen değerden daha yüksek bulunmuştur. Thymoquinone bütün örneklerle karşı aktivite göstermiş olmakla beraber en iyi etkiyi MİK: 4µg/mL ile *S. constellatus*' a göstermiştir.

Najah (75) çalışmasında *Nigella sativa* L. tohumlarının etanol ve eter ekstraktının *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus mitis*'e karşı 12.7 ile 5.1 mm arasında inhibisyon zonu oluşturduklarını tespit etmiştir.

Ababutain'ın (76) çalışmasında çörek otunda içerisinde bulunduğu tıbbi bitkileri çözücü içerisinde 3 gün bekletilerek elde edilen etanol ekstraktlarının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile aktiviteleri incelemiştir. Bu çalışmada çörek otunun etanol ekstraktı gram negatif (*E.coli* ve *P. aeruginosa*), gram pozitif (*B. subtilis* ve *S. aureus*) ve mayaya (*C. albicans*) karşı aktivite göstermemiştir.

Khalid ve ark. (34) içerisinde *N. sativa*'nın da bulunduğu bitkilerin antimikrobiyal etkisini değerlendirmişlerdir. Soxhlet yöntemi de dahil olmak üzere çeşitli yöntemler ile elde edilen soğuk ve sıcak su ekstraktı, metanol ekstraktı ve hekzan ekstraktının (yağı) *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. faecalis* (ATCC 14506), *S. aureus* (ATCC 6538), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve *S. typhi* (ATCC 14028)'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonları belirtilmiştir. Metanol ekstraktı en iyi etkiyi *B. subtilis* ve *S. aureus*'a (18 mm) karşı göstermiş fakat *E. faecalis* ve *S. typhi* karşı etki göstermemiştir. Soğuk su ekstraktında maksimum etki *S. aureus*'a (18mm) karşı oluşmuştur ve *E. faecalis* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etki gözlenmemiştir. Sıcak su ekstraktı ve çörek otu yağı inhibisyon zonları değişmekle birlikte bütün bakterilere karşı etki gözlenmiştir.

Gerige ve ark. (77) *Nigella sativa* L. tohumlarının uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanarak belirlemişlerdir. Mantar, gram negatif ve gram pozitif bakteri olmak üzere 19 mikroorganizmaya karşı test etmişlerdir. Gram negatif (*Haemophilus influenza*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus vulgaris*) ve gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Bacillus subtilis*) bakterilerde antimikrobiyal ajan olarak son derece etkili olduğu fakat *Trichoderma*

vibriae, *Pencillium rubrum* gibi mantar ve dermatofit: *Trichophyton mentagrophytes*'na karşı 20 µl konsantrasyonda etkili olmadığı gösterilmiştir.

Özmen ve ark. (78) *Nigella sativa* L.'nin eter ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 35218, *E. faecalis* ATCC 51299, *Proteus* sp. ve *Micrococcus luteus* ATCC 9341 izolatlarına karşı olup olmadığını test etmişlerdir. Gram pozitif bakteriler *S. aureus* (15 mm) ve *M. luteus* (12mm)' a karşı etkinlik gösterirken *E. coli*, *E. faecalis*, *Proteus* sp.'a karşı etkinlik göstermediğini tespit etmişlerdir.

Nigella sativa L. ekstraktları içlerinde *V. cholera*, *E. coli* ve *Shigella dysenteriae*'nin de bulunduğu ilaç dirençli izolatlara karşı da etki gösterildiği bildirilmiştir (5). Fakat biz çalışmamız da aseton, etil asetat ve hekzan ekstraktı *E. coli* ATCC 25922 izolatına karşı sadece 7 mm zon oluşturdu.

Nair ve ark. (79) *N. sativa* L. tohum yağının besinlerin taşıdığı önemli bir patojen olan *Listeria monocytogenes*'e karşı etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak disk difüzyon yöntemi ile 20 *L. monocytogenes* üzerinde tohum yağının antibakteriyel etkisini saptamamışlar ve *Nigella sativa*'nın gentamisinden daha fazla inhibisyon oluşturduğunu gözlemlemiştir. *Nigella sativa* yağının *L. monocytogenes*'i üremesini önlemek için potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Aljabre ve ark. (11) *Nigella sativa* tohumu ve bileşiği thymoguinonun antifungal etkisini agar dilüsyon yöntemi ile *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *Epidormophyton floccosum* ve *Microsporum canis*'e karşı test etmiştir. Farklı dilüsyonlarda mantar kolonilerinin inhibisyonunu belirlemişlerdir. Minimum inhibisyon konsantrasyon değerlerine göre mantar gelişiminin %80 -100' ünü inhibe ettiğini saptamışlardır. Çalışma *Nigella sativa*'nın antifugal olarak kullanılabilceği ve halk arasında mantar enfeksiyonlarında kullanılmasını desteklemişlerdir.

Farelerin çeşitli organları, *C. albicans* ile enfekte edilmiş bir model kullanılarak *Nigella sativa* tohumlarının sulu ekstraktının antifungal etkisi incelenmiştir, *C. albicans* enfeksiyonundan 24 saat sonra başlayarak 3 gün süreyle enfeksiyonlu farelerin her gün muayene edilmesi sonucu, incelenen bütün organlarda mantar büyümesinin belirgin bir şekilde inhibe olduğu gözlemlenmiştir (80).

Salman ve ark. (6) *N. sativa* L. tohumlarının yağı ve metanol ekstraktının çeşitli antibiyotiklere dirençli klinik izolat *Staphylococcus epidermidis* ve diğer koagülaz negatif stafilokoklara karşı aktivitesine bakmışlardır. Tohumların yağı 13 *Staphylococcus epidermidis* izolatından 12 tanesini doza bağımlı olarak inhibe etmiştir. Metanol ekstraktı ise yağdan daha yüksek konsantrasyonlarda inhibe edici etki göstermiştir.

Salman ve ark. (8) *Nigella sativa* L. tohumlarının yağı ve metanolik ekstraktının çoğul dirençli *P. aeruginosa* izolatlarına etkinliğini araştırmışlardır. Soxhlet ve maserasyon ile metanol ekstrakt elde etmişler ve disk difüzyon yöntemi ile aktiviteyi nitel olarak tespit etmişlerdir. Standart izolatlara *P. aeruginosa* (NCTC 10662) ve *P. aeruginosa* (ATCC 27853) 'ya karşı doza bağımlı aktivite tespit edilmiştir. 21 klinik *P. aeruginosa* izolatı test edilmiş ve tohumun yağı 11 izolatta aktivite göstermişken, metanol ekstraktı 12 izolata karşı aktivite göstermiştir. Bizim çalışmamızda *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve 10 *P. aeruginosa* izolatı çalışılmış ve standart izolatta etki gözlenmezken klinik izolatlardan üçünde etki gözlenmiştir. Etki görülen izolatların MİK değerlerinin 25-100 mg/mL arasında değiştiği bulunmuştur.

Zuridah ve ark. (12) *N. sativa* L. tohumlarının metanol ekstraktının antimikrobiyal etkisini disk difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. DMSO ile çözülerek farklı konsantrasyonlar (25 mg/20µL, 50 mg/20µL ve 100 mg/20µL) disklere emdirilmiş ve MHA da izolatların inhibisyon zonları belirlenmiştir. *S. aureus* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı doza bağımlı etkinlik tespit etmişler. Fakat GSBL üreten izolatlarda (*E. coli*, *K. pneumoniae*) etkinlik görülmemiştir. Zuridah ve ark.larının çalışması ile uyumlu olarak *S. aureus* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı doza bağımlı etki gözlemlenirken, GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarından dokuz tanesinde etki bulunamamıştır.

Sökmen ve ark. (67) Türkiye'de yetişen tıbbi bitkilerin antimikrobiyal aktivitesini in vitro olarak değerlendirmiştir. Bu çalışmada *Nigella sativa* tohumlarının kloroform ekstraktı *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *Branhamella catarrhalis*, *Clostridium perfringens* ve *C. albicans* 'a karşı inhibe edici etkisi değerlendirilmiştir. Fakat sadece *C. albicans* üzerinde inhibe edici etki gözlenmiştir. Çalışmamızda da kloroform ekstraktı açısından *E. coli* ATCC 25922 izolatında etki gözlenmezken, 4 *C. albicans* izolatının sadece 2'sinde 7 mm inhibisyon zonu elde edilmiştir.

Çalışmamız literatürde bulunan çalışmalardan farklı olarak çoğul dirençli klinik izolatlar ile yapılmıştır. Çünkü giderek artan antibiyotik direnci farklı ajanlara ihtiyaç duyulmasına sebep olmaktadır. Hem klinik hem de dirençli suşlar kullanarak yaptığımız çalışma sonucu *N. sativa* L. tohumlarının ekstraktlarının antimikrobiyal ajan potansiyeli olduğu saptanmıştır.

Ayrıca vankomisin dirençli *E. faecium* (VRE), SXT dirençli *S. maltophilia*, *S. paucimobilis* ve *S. marcencens* klinik izolatları ilk kez *N. sativa* L. tohumlarının antimikrobiyal aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak VRE ve *S. marcencens* izolatlarının hiçbirinde ekstraktların hiçbir aktivite göstermemiştir. Ekstraktlar SXT dirençli *S. maltophilia* ve *S. paucimobilis* doza bağımlı aktivite göstermiştir.

7.1. Sonuçlar

Aseton ekstraktının 90 klinik izolattan 39 (%43), etil asetat ekstraktının 35 (%39), kloroform ekstraktının 27 (%30), metanol ekstraktı 32 (%36) ve hekzan ekstraktı 42 (%47) izolata karşı etkili olduğu tespit edildi. Hiçbir ekstraktın *P. aeruginosa* ATCC 27853'ya karşı etki göstermediği tespit edildi. *E. coli* ATCC 25922'ye karşı aseton, etil asetat ve hekzan ekstraktı 7 mm inhibisyon zonu oluşturdu. *S. aureus* ATCC 25923'a karşı ekstraktlardan sadece etil asetat inhibe edici etki göstermedi.

Bütün ekstraktlar on adet MRSA izolatına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdi.

S. paucimobilis izolatlarının (n:7) hepsine karşı bütün ekstraktların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edildi.

SXT dirençli *S. maltophilia* izolatlarının (n:10) hepsine karşı en az 3 ekstraktın antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Çoğul dirençli *A. baumannii* (n:3) ve *P. aeruginosa* (n:3) toplam 6 izolatta en fazla 2 ekstrakt antimikrobiyal aktivite gösterdi.

Çalışılan GSBL pozitif *K. pneumoniae*'ya izolatlarından sadece bir tanesinde kloroform ekstraktı hariç diğer ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi olduğu gözlemlendi.

VRE ve *S. marcescens* izolatlarının tamamı (n:10), *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarının dokuzar tanesi ve yedi adet *P. aeruginosa* izolatına karşı hiçbir ekstrakt antimikrobiyal aktivite göstermedi.

MRSA izolatlarının MİK değerlerine bakıldığında en yüksek 1.6 mg/mL, en düşük değer ise 0.2 mg/mL olduğu saptandı. *S. paucimobilis* izolatlarında MİK değerleri 0.1 mg/mL ile 100mg/mL arasında oldukça değişkenlik gösterdi. *S. maltophilia* izolatlarının MİK değerleri 6.25 mg/mL ile ≥ 100 mg/mL arasında değişkenlik göstermekle birlikte genel olarak 25mg/mL'di. *A. baumannii* izolatlarının MİK değerleri 12.5 mg/mL ile ≥ 100 mg/mL arasında değişiklik gösterdi. *P. aeruginosa* izolatlarının MİK değeri 25 mg/mL ile 100 mg/mL arasındaydı. *K. pneumoniae* izolatlarının ise ekstraktlara karşı MİK değerlerinin 50 mg/mL ile 100 mg/mL arasında olduğu gözlemlendi.

C. albicans izolatlarında en az dört ekstrakt aktivite gösterdi fakat en fazla 9 mm inhibisyon zonu belirlenmiştir. *C. parapsilosis* ve *C. glabrata* izolatlarında en fazla 3 ekstrakt aktivite gösterdi ve gösterilen aktivite sonucu inhibisyon zon çapı en fazla 8 mm ölçüldü.

KAYNAKLAR

1. Alanis AJ (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. Archives of Medical Research 36: 697-705.
2. Alam MM, Yasmin M, Nessa J, Ahsan CR (2010). Antibacterial activity of chloroform and ethanol extracts of black cumin seeds (*Nigella sativa*) against multi-drug resistant human pathogens under laboratory conditions. Journal of Medicinal Plants Research 4 (18): 1901-1905.
3. Tanis H, Aygan A, Dıgrak M (2009). Antimicrobial Activity of Four *Nigella* Species Grown in Southern Turkey. International Journal of Agriculture & Biology 11-6: 771-774.
4. Salman MT, Khan RA, Shukla I (2008). In vitro antimicrobial activity of *Nigella sativa* oil against multi-drug resistant bacteria. Unimed Kulliyat II (1): 8-13.
5. Salem ML (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. Seed. International Immunopharmacology 5: 1749-1770.
6. Salman MT, Khan RA, Shukla I (2008). Antimicrobial activity of Black cumin seeds (*Nigella sativa*) against multidrug resistant strains of Coagulase negative Staphylococci. Hippocratic Journal of Unani Medicine 3(1): 107-112.
7. Alhaj NA, Shamsudin MN, Zamri HF, Abdullah R (2008). Extraction of Essential Oil from *Nigella sativa* Using Supercritical Carbon Dioxide: Study of Antibacterial Activity. American Journal of Pharmacology and Toxicology 3 (4): 225-228.
8. Salman MT, Khan RA, Shukla I (2009). A Study of *Nigella sativa* Linn. seeds for antimicrobial activity against multidrug resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Hippocratic Journal of Unani Medicine 4(4): 95-104.
9. Hanafy MS, Hatem ME (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). J Ethnopharmacol 34(2-3): 275-8.
10. Namba T, Tsunozuku M, Dissanayake DMRB, Pilapitiya U, Saito K, Kakiuchi N, Hattori M, et al. (1985). Studies on dental caries prevention by traditional medicines (Part VII); Screening of Ayurvedic medicines for antiplaque action. Japanese Journal of Pharmacognosy 39 (2):14-53.
11. Aljabre SHM, Randhawa MA, Akhtar N, Alaklobya OM, Alqurashi AM, Aldossary A (2005). Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. Journal of Ethnopharmacology 101: 116-119.

12. Zuridah H, Fairuz ARM, Zakri AHZ, Rahim NA (2008). In vitro Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. Asian Journal of Plant Sciences 7(3): 331-333.
13. Yasrı S, Syamsır E, Direja EH (2009). Antimicrobial Activity of *Black Cumin* Extracts (*Nigella sativa*); Against Food Pathogenic and Spoilage Bacteria. Microbiology Indonesia 3(3):146-150.
14. B. Mahesh, S. Satish (2008). Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. World Journal of Agricultural. Sciences 4 (S): 839-843.
15. Baytop T (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İkinci Baskı. İstanbul Üniversitesi Yayını. No. 3255, İstanbul . 1-30.
16. Tanker N, Koyuncu M, Çoşkun M (2007). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No.93, Ankara; 1-20.
17. Cowan M.M (1999). Plants products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, No.12, 564-582.
18. Buruk CK (2002). Doğu Karadeniz Bölgesinde yetişen bazı endemik bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
19. Hızlısoy H (2009). Çeşitli mikroorganizmalar üzerine gilaburunun antimikrobiyal etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
20. Başer C (1997). Current Knowledge on the wild food and non-food plants of Turkey. Cahiers Options Méditerranéennes 23: 129- 159.
21. Farnsworth NR and Soejarto D.D (1992). Global importance of medicinal plants. The conservation of medicinal plants (Akerlele O, Heywood V, Sygne H). Cambridge University Press, England, 25-51.
22. Ababutain IM (2011). Antimicrobial activity of ethanolic extracts from some medicinal plant. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(11): 678-683.
23. Nalbantbaşı Z, Gölcü A (2009). Kahramanmaraş yöresine ait şifalı bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri. KSÜ Doğa Bil. Derg 12 (2): 1-8.

24. Benli M, Yiğit N (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi 3(8): 1-8.
25. Tadeğ H, Mohammed E, Asres K, Gebre-Mariam T (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. Journal of Ethnopharmacology 100:168–175.
26. Coşkun M, Gençler Özkan AM (2005). Global phytochemistry: The Turkish frame. Phytochemistry 66 (9): 956-60.
27. Ateş DA, Erdoğan ÖT (2003). Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turk J Biol 27: 157-162.
28. Yiğit N, Yiğit D, Özgen U, Aktaş AE (2007). Kara dut (*Morus nigra* L.)'un antikandidal aktivitesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 37 (3) : 169-173.
29. Ertürk Ö (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. Biologia, Bratislava, Section Cellular and Molecular Biology 61(3): 275-278.
30. Zahra N, Jahan N, Nosheen S, Rehman K (2011). Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic extracts and crude extracted phytoconstituents of *Nigella sativa* seeds Bioscience Research 8(1): 19-25.
31. Dadgar T, Asmar M, Saifi A, Mazandarani M, Bayat H, Moradi A, Bazueri M, Ghaemi E (2006). Antibacterial Activity of certain Iranian medicinal Plants Against ethicillin-Resistant and Sensitive *Staphylococcus aureus*. Asian Journal of Plant Sciences 5(5): 861-866.
32. Chaudhry NMA, Tariq P (2008). In Vitro Antibacterial Activities of Kalonji, Cumin and Poppy Seed. Pak. J. Bot 40(1): 461-467.
33. Turkish Plants Data Servise (2013). Taxonomic browser [online]. Available from: http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=1&tax_id=148.
34. Khalid A, Rehman U, Sethi A, Khilji S, Fatima U, Khan MI, Waqas MK, Saqib QN, Asad MHH, Farzana K, Mahmood S, Waseem A, Ismail T, Murtaza G (2011). Antimicrobial activity analysis of extracts of *Acacia modesta*, *Artemisia absinthium*, *Nigella sativa* and *Saussurea lappa* against Gram positive and Gram negative microorganisms. African Journal of Biotechnology 10 (22): 4574-4580.

35. Naz H (2011). *Nigella sativa*: the miraculous herb. Pak. J. Biochem. Mol. Biol 44 (1): 44-48.
36. Rakhshandeh H, Mashhadian NV, Khajekaramadini M (2011). In vitro and in vivo study of the antibacterial effects of *Nigella sativa* methanol extract in dairy cow mastitis. Avicenna Journal of Phytomedicine 1(1): 29-35.
37. Randhawa MA, Alghamdi MS (2011). Anticancer Activity of *Nigella sativa* (Black Seed)-A Review. The American Journal of Chinese Medicine 39 (69): 1075–1091.
38. Galimuhtasib H, El-najjar N, Schneider- stock R (2006). The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components. Lead Molecules from Natural Products (Ed: M.T.H. Khan and A. Ather). 2: 133-153.
39. Salih B, Sipahi T, Oybak Donmez E (2009). Ancient *Nigella* seeds from Boyalı Hoyuk in north-central Turkey. Journal of Ethnopharmacology 124: 416–420.
40. Mishra RP (2011). Effect of Metal Ions and Drugs on Antibacterial Activities of *Nigella Sativa L.* Seeds. WebmedCentral Ayurvedic Medicine 2(8): WMC002074.
41. Bakathir HA, Abbas NA (2011). Detection of the antibacterial effect of *Nigella sativa* ground seeds with water. Afr J Tradit Complement Altern Med 8(2):159-164.
42. Kutlu SB (2006). Çeşitli klinik materyallerden izole edilen materyellerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisiline direnci ve E-test ile vankomisin MIC değerlerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
43. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC (2009). Manual of Clinical Microbiology. Birinci Cilt. Dokuzuncu Baskı. ASM Press, Washington, DC. 390 - 770.
44. Winn JR, Tenover FC, Murray PR, Tenover FC (2006). Gail Woods Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Washington. Altıncı baskı. Lippincott Williams & Wilkins. 332-334.
45. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz Metin (2005). Asya Mikrobiyoloji. Dördüncü Baskı. Asya Tıp Kitabevi, İzmir. 71 - 173.
46. Özen NS, Dağlar D, Özhak Baysan B, Yıldırım Ç, Yazısız H, Ögünç D, Öngüt G, Çolak D, Gültekin M (2011). Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının saptanmasında MRSA ID kromojenik besiyerinin değerlendirilmesi. ANKEM Dergisi 25(1) : 31-34.

47. Voss A, Ilatovic D, Wallrauch C, Rosdahl VT, Braveny I (1994). Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis* 13(1) : 50-55
48. Bonten MJM, Willems R, Weinstein RA (2001). Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?. *Lancet Infect Dis* 1:314–25.
49. Towner KJ (2009). *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect* 73: 355-63.
50. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 21 : 538-582.
51. Bergogne Berezin E, Towner KJ (1996). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological and epidemiological features. *Clinical Microbiology Reviews* 9: 148-165.
52. Janssen P, Maquelin K, Coopman R, Tjernberg I, Bouvet P, Kersters K, Dijkshoorn L (1997). Discrimination of *Acinetobacter* Genomic Species by AFLP Fingerprinting. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47: 1179–1187.
53. Prashanth K, Badrinath S (2005). Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis. [Comparative Study]. *Indian J Med Res* 122: 408-418.
54. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Türk Arıbaş E, Erayman İ (2010). Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Derg* 24(1): 28-33.
55. Gouby A, Neuwirth C, Bourg G, Bouziges N, Carles-Nurit MJ, Despaux E, Ramuz M (1994). Epidemiological study by pulsed-field gel electrophoresis of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a geriatric hospital. *J. Clin. Microbiol* 32(2):301-305.
56. Aydoğan H, Başustaoğlu A (200). Nozokomiyal Patojen Olarak *Klebsiella* Türlerinin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 4: 135-143.
57. Khanfar HS, Bindayna KM, Senok AC, Botta GA (2009). Extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: trends in the hospital and community settings. *J Infect Dev Ctries* 3(4) : 295-299.

58. Denton M, Kerr KG (1998). Microbiological and Clinical Aspects of Infection Associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews* 11 (1): 57–80.
59. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (2010). *Medical Microbiology*. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6th ed. Çeviren Başustaoğlu AC, Atlas Kitapçılık, Ankara.
60. Mahlen SD (2011). *Serratia* Infections: from Military Experiments to Current Practice. *Clinical Microbiology Reviews* 24(4): 755-791.
61. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA (2010). *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medicinal Microbiology*. Tıbbi Mikrobiyoloji. 24th ed. Çeviren Yenen OŞ, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 621-644.
62. Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT (2012). Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *Int J Microbiol* 2012:713687.
63. Arıkan S, Ostrosky-Zeichner L, Lozano-Chinu M, Paetznick V, Gordon D, Wallace T, Rex JH (2002). In vitro Activity of Nystatin Compared with Those of Liposomal Nystatin, Amphotericin B, and Fluconazole against Clinical *Candida* isolates. *J. Clin. Microbiol* 40 (4): 1406-1412.
64. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L (2006). Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings. *American Journal of Infection Control* 35 (10) : 165-193.
65. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Disc Susceptibility Tests; Approved Standards-Ninth Edition (2006). Clinical and Laboratory Standards Institute Document M2-A9 [ISBN 1-56238-586-0]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
66. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty First Informatinal Supplement (2011). CLSI document M100- S20 [ISBN 1-56238-742-1]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
67. Sokmen A, Jones BM, Erturk M (1999). The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 67: 79–86.

68. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Approved Standards- Seventh Edition (2006). Clinical and Laboratory Standards Institute Document M7-A7 [ISBN 1-56238-587-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
69. Albayrak AS (2005). SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri. (Ed: Kalaycı Ş), Asil Yayın Dağıtım, Ankara.
70. Yiğit D, Yiğit N, Aktaş E, ÖZGEN Ufuk (2009). Ceviz (*Juglans regia L.*)’in Antimikrobiyal aktivitesi. Türk Mikrobiyoloji Cem Dergisi 39 (1-2): 7-11.
71. Singh G, Marimuthu P, Heluani CS, Catalan C (2005). Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture 85: 2297–2306.
72. Hannan A, Saleem S, Chaudhary S, Barkaat M, Arshad MU (2008). Antibacterial activity of *Nigella sativa* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Ayup edical College 20 (3): 72-74.
73. Aslam M, Khan M, Ahmad S (2011). In vitro Bactericidal activity of seeds extract of *Nigella sativa* against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospital Delhi Ncr Region India. International Journal of Pharmaceutical Research Development 3(6): 90-93.
74. Harzallah HJ, Kouidhi B, Flamini G, Bakhrouf A, Mahjoub T (2011). Chemical composition, antimicrobial potential against ariogenic bacteria and cytotoxic activity of Tunisian *Nigella sativa* essential oil and thymoquinone. Food Chemistry 129 1469–1474.
75. Mohammed NA(2012). Effect of *Nigella Sativa L.* extracts against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis* in Vitro. J Bagh College Dentistry 24(3): 154-547.
76. Ababutain IM (2011). Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts From Some Medicinal Plant. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(11): 678-683.
77. Gerige SJ, Gerige MKY, Rao M, Ramanjaneyulu (2009). GC-MS Analysis of *Nigella sativa* Seeds and Antimicrobial Activity of its Volatile oil. Braz. Arch. Biol. Technol 52 (5): 1189-1192.
78. Özmen A, Basbülbul G, Aydin T (2007). Antimitotic and antibacterial effects of the *Nigella sativa L.* Seed. Caryologia 60(3): 270-272.

79. Nair MKM, Vasudevan P, Venkitanarayanan K (2005). Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. Food Control 16: 395–398.
80. Khan MAU, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH (2003). The *In Vivo* Antifungal Activity of the Aqueous Extract from *Nigella sativa* Seeds. Phytother. Res 17: 183–186.

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ KLİNİK
ARAŞTIRMALAR
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
FACULTY OF MEDICINE
ETHIC COUNCIL

Sayı: 17522305/317
Konu:

Tarih:14/05/2013

Sayın; Doç.Dr.Gülçin BAYRAMOĞLU
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD.

“*Nigella Sativa L.* Tohumlarının Çoğul Dirençli Klinik İzolatlar Üzerinde Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması” başlıklı etik kurul 2012/178 no’lu tez çalışmasının raportör ve etik kurul görüşleri doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilginizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Faruk AYDIN
Etik Kurul Başkanı

Eki : 1 onay belgesi

11. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport :
Soyadı, Adı : DURUKAN, İnci
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 29/12/1987, ANKARA
Medeni hali : Bekar
Telefon :
Faks :
E-Posta : idurukan87@hotmail.com
Yazışma adresi : KTÜ SABE Tıbbi Mikrobiyoloji AD

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	:	
Yüksek Lisans	: KTÜ SABE Tıbbi Mikrobiyoloji AD	2013
Lisans	: Kırıkkale Üniversitesi	2008
Lise	: Kalaba Lisesi	2004

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre(Yıl-Yıl)
--------	-------	---------------

YABANCI DİL

İngilizce